

UNIVERSITE DE CLERMONT

FACULTE MIXTE DE MEDECINE ET DE PHARMACIE

Année 1968

N° 30

THÈSE

pour le

DOCTORAT EN PHARMACIE

(Diplôme d'Université)

par

Bernadette L A C

Pharmacien

née le 24 Juin 1941 à EGLETONS (Corrèze)

Présentée et soutenue publiquement le 8 Mai 1968

CONTRIBUTION A L'ETUDE TOXICOLOGIQUE-PHARMACOLOGIQUE
DU COLLYRE C 162 D (GLAUCOSTAT)

Président : M. BASTIDE, Professeur

M. TRONCHE, Professeur

Membres du Jury : M. CLUZEL, Professeur

M. DORIER, Chargé de Cours



Digitized by the Internet Archive
in 2026

UNIVERSITE DE CLERMONT

FACULTE MIXTE DE MEDECINE ET DE PHARMACIE

Année 1968

N°

T H È S E

pour le

DOCTORAT EN PHARMACIE

(Diplôme d'Université)

par

Bernadette L A C

Pharmacien

née le 24 Juin 1941 à EGLETONS (Corrèze)

Présentée et soutenue publiquement le 8 Mai 1968

CONTRIBUTION A L'ETUDE TOXICOLOGIQUE-PHARMACOLOGIQUE

DU COLLYRE C 162 D (GLAUCOSTAT)

Président : M. BASTIDE, Professeur

M. TRONCHE, Professeur

Membres du Jury : M. CLUZEL, Professeur

M. DORIER, Chargé de Cours

Doyen : G. MEYNIEL,
Assesseur : M. COULET

Doyen Honoraire : M. CUVELIER Directeur Honoraire : M. MERLE.

Professeurs Honoraires : Mme BLANQUET, MM. BUREAU,
GAUTHIER, POMMÉ.

I - Professeurs Titulaires

MM. BARRIER	- Clinique Chirurgicale A
BASTIDE	- Chimie biologique et Pharmacodynamie
BAUDON	- Clinique obstétricale
BERGER	- Chimie analytique
BERGERON	- Pathologie médicale
COULET	- Botanique et microbiologie
CUVELIER	- Hydrologie et Climatologie
DASTUGUE	- Biochimie médicale
DAUPHIN	- Chimie Pharmaceutique et Toxicologie
DELAGE	- Anatomie Pathologique
FEBVRE	- Pharmacie Galénique
GRAS	- Clinique Médicale
JACQUEMET	- Technique chirurgicale
JALLUT	- Séméiologie médicale
LATAIX	- Pathologie chirurgicale
MERCIER	- Anatomie
MEYNIEL	- Biophysique médicale
MOLINA	- Clinique Pneumo-phtisiologique
PETIT	- Médecine légale et Médecine sociale
POROT	- Clinique neurologique et psychiatrique
POURRAT	- Matière médicale
Mele RAMPON	- Thérapeutique
MM. ROUHER	- Clinique ophtalmologique
TERRASSE	- Clinique médicale B
THIEBLOT	- Physiologie
THOMAS	- Clinique Oto-Rhino-Laryngologique
TRONCHE	- Pharmacie chimique
TURCHINI	- Histologie et Embryologie
VAURS	- Bactériologie et Hygiène
WILLEMIN-CLOG	- Clinique Médicale infantile

II - Professeur Titulaire à titre personnel.

M. CHAMPEIX	- Médecine Légale et Médecine du Travail
M. VIALLET	- Electro-Radiologie.

III - Professeurs sans Chaire.

MM. ALFIERI	- Biophysique Médicale
CLUZEL	- Bactériologie
DUCHENE-MARULLAZ	- Physiologie
GERMAIN	- Clinique Chirurgicale B
MENUT	- Pédiatrie et Puériculture.

IV - Maîtres de Conférences Agrégés.

M. BOSSY	- Anatomie
Mlle CHATONIER	- Chimie minérale et Minéralogie
Mme GAILLARD	- Physique Pharmaceutique
Mme MOINADE	- Médecine générale et Thérapeutique
M. PIGNIDE	- Médecine générale
Mme POURRAT	- Botanique
M. VENRIES de LAGUILLAUMIE	- Anatomie Pathologique

V - Agrégés

MM. FOURRIER	- Orhtopédie
HOUDARD	- Chirurgie Générale
JANNY	- Neuro-chirurgie
RENARD	- Pneumo-phthisiologie
TOURNILHAC	- Neurologie et Psychiatrie

VI - Délégués dans les fonctions de Maitres de Conférences.

MM. JARREAU	- Matière médicale
MALET	- Histologie et embryologie
MARCHEIX	- Médecine générale et Thérapeutique
PLAGNE	- Cancérologie

Attaché Principal : M. BERTHON
Conservateur de la Bibliothèque : M. ARCHIMBAUD

La Faculté décide que les opinions émises dans les travaux et mémoires présentés à l'occasion d'une soutenance de thèse de Doctorat en Médecine ou en Pharmacie doivent être considérées comme propres à leurs auteurs et qu'elle n'entend leur donner, ni approbation ni improbation. (Délibération en date du 6 Juin 1956).

— : — : — : — : — : — : — : — : — : — : — : — : — :

A mes parents,

En témoignage de ma profonde affection
et de ma vive reconnaissance.

A ma famille

A tous mes amis.

A NOTRE MAITRE ET PRESIDENT DE THESE

Monsieur le Professeur BASTIDE

Professeur de Chimie Biologique et de Pharmacodynamie

Pharmacien des Hôpitaux

Chevalier des Palmes Académiques

Il nous a inspiré le sujet de cette thèse et nous a sans cesse orientée dans nos recherches. Sa bienveillance à notre égard a contribué à nous faire apprécier ses grandes qualités humaines et scientifiques.

Qu'il veuille bien trouver ici l'expression de notre fidèle attachement et de nos sentiments de très profonde reconnaissance.

A NOTRE JURY DE THESE,

Monsieur le Professeur TRONCHE
Professeur de Pharmacie Chimique
Diplômé d'E. S. d'Ophtalmologie
Chevalier des Palmes Académiques

En témoignage de respectueuse gratitude
pour tous les conseils qu'il nous a pro-
digués et la part qu'il a prise dans la di-
rection de ce travail.

Monsieur le Professeur CLUZEL
Professeur de Bactériologie

Il nous a fait l'honneur de juger cette thèse.
Que sa bienveillance à notre égard trouve
ici le témoignage de notre profonde recon-
naissance.

Monsieur Charles DORIER
Chargé de Cours en Toxicologie et Bromatologie
Docteur ès-Sciences
Officier de la Légion d'Honneur
Officier de la Santé Publique
Officier des Palmes Académiques

Avec l'assurance de toute notre reconnais-
sance.

A TOUS NOS MAITRES

Hommage de profonde reconnaissance.

A Messieurs Jean et René CHIBRET

En témoignage de notre respectueuse
gratitude.

Aux Chercheurs de l'Institut CHIBRET

Madame VAUDELEAU

Monsieur BONNET

Monsieur GRADISKI

A Monsieur MILHET
Pharmacien

Dont la sympathie a rendu agréable notre
séjour dans son officine.

INTRODUCTION

Les dérivés de la quinuclidine constituent des sources de médicaments d'un intérêt indubitable, mais jusqu'à une époque récente, on possédait peu de données biologiques en raison de la complexité de préparation de ces produits (16).

Les premiers dérivés de la quinuclidine dont l'étude pharmacodynamique a été réalisée sont des dérivés substitués en position 2, dont la synthèse a été accomplie à partir de l'acide quinuclidine-carboxylique-2. Les dérivés substitués en position 3 ont été étudiés plus tard, sauf quelques esters et quelques uréthanes de l'hydroxy-3-quinuclidine (13).

L'hydroxy-3-méthyl-1-quinuclidinium-bromobenzylate a été testé pour ses effets anticholinergiques en 1955 (12).

A ces produits dont les propriétés rappelaient quelque peu celles de l'Atropine, on avait tout d'abord donné le nom de Marplan. On sait que depuis, ce nom a été donné à une substance de type hydrazinique, inhibiteur de monoamine-oxydase.

Il n'entre pas dans nos intentions d'aborder la synthèse du noyau de la quinuclidine. Nous rappellerons seulement que l'acétoxy-3-quinuclidinol qui fait l'objet de notre travail est obtenu

à partir de la quinuclidinone-3, elle-même préparée à partir de la carbétoxy-méthyl-1-carbétoxy-4-pipéridine (5).

Si notre étude porte sur le chlorhydrate d'acétoxy-quinuclidine, signalons que d'autres sels ont été préparés et étudiés, notamment le salicylate par les auteurs russes et le benzoate d'acétoxy-quinuclidinium-3 (6).

Récemment introduit dans les molécules médicamenteuses, le noyau de la quinuclidine s'est révélé plein d'intérêt. D'importantes recherches chimiques et pharmacodynamiques lui ont été consacrées (18). Les dérivés du quinuclidinol-3 et en particulier de l'acétoxy-quinuclidinol-3 se sont signalés par leurs effets myotiques et hypotenseurs du globe oculaire. Le dernier composé montre une puissante activité muscarinique et une absence presque complète de propriétés nicotiniques (10). Un tel comportement trouverait une explication dans la conformation différente des récepteurs muscariniques et nicotiniques ainsi que dans la disposition spatiale de la molécule. En effet, dans l'acétoxy-quinuclidinol-3 la distance interatomique N - O serait voisine de celle qu'on observe dans la conformation de l'acétylcholine la plus favorable au récepteur muscarinique. Les auteurs soviétiques (11) se sont plus spécialement attachés à l'étude du salicylate d'acéclidine dont ils ont proposé l'emploi en clinique humaine.

Nous avons utilisé dans nos recherches le chlorhydrate d'acéclidine sous forme de collyre tamponné isotonique répondant à la formule suivante.*

Acétoxyquinuclidine 3-chlorhydrate	2,00	g.
Acide borique	1,80	g.
Borate de sodium	0,13	g.
Eau distillée	q.s.p.100	ml.

Ce collyre est présenté sous forme lyophilisée.

Après remise en solution, on obtient un collyre de 10 ml., limpide, incolore, pouvant être utilisé pendant un mois.

* Le Collyre C 162 D est spécialisé par les Laboratoires CHIBRET sous le nom de Glauco-stat.

Les propriétés toxicologiques, pharmacologiques et cliniques du C 162 D ont été décrites par nos Maîtres (2) et nous les remercions de nous avoir associée à cette étude.

Notre travail sera donc divisé en deux parties : l'une bibliographique, l'autre expérimentale (toxicologique d'une part, pharmacologique d'autre part) suivies d'une conclusion générale.

-:-:-:-:-:-:-:-:-:-:-

RECHERCHES BIBLIOGRAPHIQUES

Le salicylate de 3-acétoxy-quinuclidine (acéclidina a donné lieu à une étude pharmacologique de MASHKOVSKIÏ et ZAITZEVA (11) dont nous rappellerons ici les principaux points :

1° - Action générale et toxicité :

" La DL 50 par administration unique à des souris blanches d'un poids de 15 à 16 g. est de 36 mg/kg. par voie intra-veineuse, 102 mg./kg. par voie sous-cutanée et 165mg./kg. par voie orale. L'acéclidine provoque chez les animaux un tremblement, une hypersialorrhée et une agitation ; aux fortes doses, on observe des convulsions clonico-toniques. L'injection intra-veineuse de la préparation à des rats, à partir de la dose de 10mg/kg détermine une accélération de la respiration, un tremblement ou des convulsions de courte durée et l'apparition d'une chromodacryorrhée ; par augmentation de la dose à 20-30 mg./kg., les animaux se couchent sur le flanc. A 50 mg./kg., 3 des 5 rats traités moururent dans les 3 à 5 minutes après l'injection et à la dose de 60 mg./kg., les 5 rats moururent dans les 3 à 15 secondes suivant l'injection. La DL 50 par injection intra-veineuse est de 45 mg./kg.

L'administration sous-cutanée de la préparation à des rats à la dose de 25-50-100-150 mg./kg. provoqua des convulsions clonico-toniques, une chromodacryorrhée et une diarrhée. Le lendemain l'état des animaux ne différait pas de l'état initial. La dose de 300 mg./kg provoqua la mort des 5 animaux. La DL 50 par administration sous-cutanée est de 225 mg./kg.

Chez le lapin, quelques secondes après l'administration intra-veineuse de la préparation à la dose de 0,5 mg./kg. on observa une hypersialorrhée de courte durée et une parésie des extrémités. A la dose de 1 mg./kg., on nota une salivation abondante, un rétrécissement pupillaire marqué, des convulsions,

et les animaux se couchaient sur le flanc ; 3 à 4 heures plus tard, leur état général ne différait pas de l'état initial. Quelques secondes après l'administration de 5 mg./kg., les animaux se couchaient sur le flanc, on notait un arrêt respiratoire et la mort.

L'administration gastrique à des lapins de capsules d'acéclidine à la dose de 25 mg./kg. provoquait déjà au bout de 5 minutes une sialorrhée et une dacryorrhée abondantes ; au bout de 10 à 15 minutes, on notait un myosis et l'évacuation de matières liquides. L'état général se rétablissait progressivement et, le lendemain, les animaux traités ne se distinguaient pas des témoins. A la dose de 50 mg./kg., la mort survenait en 30 à 40 minutes.

Les expériences réalisées ont montré que les signes caractéristiques de l'action de l'acéclidine sont l'excitation, le tremblement, les convulsions, le renforcement de la salivation, la chromodacryorrhée, la diarrhée, le myosis, c'est-à-dire des phénomènes propres aux substances cholinomimétiques. Les expériences ultérieures ont confirmé la nature cholinomimétique de ces manifestations. L'administration intra-veineuse à des souris blanches de 1 mg./kg. d'atropine a empêché l'apparition de manifestations toxiques et l'issue fatale de l'injection intra-veineuse 10 minutes plus tard de 3 DL 50 d'acéclidine (100 mg./kg.), 4 DL 50 d'acéclidine provoquèrent la mort de 3 des 5 souris, et ce n'est qu'à la dose de 200 mg./kg., soit 6 DL 50, que les animaux moururent ".

2° - Influence sur la circulation et la respiration :

" Les expériences furent réalisées sur des chats narcosés à l'uréthane. La préparation fut injectée dans la veine fémorale.

La dose de 0,05 mcg./kg. détermina un faible abaissement -10-12 mm. Hg. - de la pression artérielle, d'une durée de 20 à 30 secondes ; à la dose de 5 - 10 mcg./kg., on observa une brève diminution de 40-80 mm. Hg. de la pression artérielle. La respiration était un peu stimulée au moment de l'administration. L'augmentation de la dose de 50 mcg./kg. renforça

l'effet dépresseur et l'activité cardiaque se ralentit. L'augmentation ultérieure de la dose administrée aboutit à un renforcement de l'hypotension et de la bradycardie et à une augmentation de l'amplitude des pulsations : la respiration, après une stimulation de courte durée, montra une dépression. La dose de 2 mg./Kg. détermina en règle la mort des animaux par arrêt de la respiration et ensuite de l'activité cardiaque.

Après administration intra-veineuse de 0,5 mg/kg d'une préparation ganglioplégique d'hexonium, l'influence de l'acéclidine sur la circulation ne se modifia pas sensiblement. L'injection intra-veineuse d'atropine à la dose de 0,5 mg./kg. diminua fortement ou supprima totalement l'action hypotensive de l'acéclidine et la bradycardie. A des doses relativement fortes - jusqu'à 15 - 20 mg./kg. - l'acéclidine administrée après l'atropine ne produisit qu'un abaissement minime de la pression artérielle sans phénomènes de pouls vagal. La dose mortelle était accrue de 2 à 50 mg./kg. ''.

3° - Influence sur les systèmes cholinergiques :

a) Influence sur le diamètre pupillaire :

" Les expériences réalisées sur des chats et des lapins, ont montré que l'acéclidine montre une forte action myotique, plus marquée que celle de la pilocarpine.

Chez le lapin, par instillation dans le sac conjonctival d'une solution à 0,01 % d'acéclidine, le diamètre pupillaire diminuait en moyenne de 3 mm. (de 8 à 5 mm.) ; l'effet myotique maximal fut noté au bout de 20 à 30 minutes, et le diamètre pupillaire revint à sa valeur initiale au bout de 1,30 - 2 heures. Avec une solution à 0,1 % d'acéclidine, le diamètre pupillaire diminuait en moyenne de 5 mm. ; le myosis maximum fut observé avec des solutions à 5 et 10 %.

Chaque concentration fut expérimentée sur 3 animaux.

On n'a pas observé d'action irritante de l'acéclidine sur les muqueuses oculaires à toutes les concentrations utilisées. "

b) L'influence sur la salivation :

" Les expériences ont été réalisées avec l'acéclidine et à titre comparatif avec la pilocarpine. Chaque préparation a été administrée à 3 lapins par voie sous-cutanée à la dose de 10 mg./kg.

L'augmentation de la salivation commença en général au bout de 2 à 5 minutes. L'action de l'acéclidine était plus marquée et plus prolongée : 1 heure 30 après l'injection d'acéclidine, on nota en moyenne un volume de 80 ml. de salive, et après la pilocarpine, un volume de 20 ml.

L'administration préalable par voie sous-cutanée de 0,5 mg./kg. d'atropine supprima totalement l'effet de l'acéclidine "

c) Influence sur la musculature lisse des organes internes.

" Dans les expériences sur l'intestin isolé de lapin, il a été constaté que la concentration de 1.10^{-7} d'acéclidine provoque déjà un spasme de la musculature. Les concentrations inférieures (1.10^{-8} - 5.10^{-8}) augmentent le tonus et renforcent les oscillations pendulaires. L'action de l'acéclidine sur l'intestin n'est pas supprimée par l'hexonium à la concentration de 1.10^{-4} , mais elle est complètement supprimée par l'atropine à la dilution de 1.10^{-7} . Des applications répétées d'acéclidine à la même concentration produisent un effet identique.

Dans ces expériences, l'acéclidine s'est montrée deux fois moins active que l'acétylcholine, mais environ cinq fois plus active que l'ésérine et la carbacholine.

Chez les animaux entiers (chats sous narcose à l'uréthane et chiens sous narcose au promédol-uréthane), l'administration d'acéclidine, à partir de la dose de 5 mcg./kg., a déterminé un renforcement de l'amplitude des contractions pendulaires de l'intestin, et des doses de 50-100 mcg./kg. et plus produisirent un spasme persistant. Dans ces conditions expérimentales, l'action de l'acéclidine correspondait d'après la dose à celle de l'ésérine et la carbacholine était 10-20 fois plus active. L'atropine supprima également l'effet de l'acéclidine dans ces expériences.

A partir de la concentration de $1 \cdot 10^{-6}$, l'acéclidine provoqua un spasme de la musculature de la corne utérine isolée de cobaye. Chez les animaux entiers (chats narcosés), 10 mcg./kg. d'acéclidine par voie intra-veineuse provoquèrent une augmentation du tonus et 50 mcg./kg. un spasme persistant de l'utérus. Chez le chien et le chat, l'acéclidine injectée par voie intra-veineuse à la dose de 50-100 mcg./kg. provoqua également un spasme de la musculature de la vessie. Chez des chats narcosés chez qui le tonus de la musculature bronchique fut enregistré par la méthode de T.M. TUPLAEV, l'acéclidine à la dose de 0,5 - 1 mg./kg. provoqua un spasme bronchique. Dans ces expériences, également l'atropine empêcha ou supprima l'action de l'acéclidine.

Il a ainsi été établi que l'acéclidine montre une action tonique sur la musculature des organes internes des animaux traités et que cette action est plus spécialement en relation avec une stimulation des systèmes cholinergiques. L'action de l'acéclidine fut supprimée et empêchée par l'atropine, alors que l'hexonium n'influa pas sensiblement sur cette action".

d) Influence sur les systèmes cholinergiques périphériques.

" Par injection intra-veineuse de 50-100 mcg./kg. et plus d'acéclidine à des chats narcosés, on observa une contraction de la membrane nictitante. Cet effet était considérablement réduit par administration préalable d'une préparation ganglioplégique - hexonium à la dose de 1 mg./kg.

Le muscle droit abdominal isolé de grenouille se contracte sous l'influence de l'acéclidine. Cet effet est considérablement réduit par une préparation curarisante - diplacine à la concentration de $1 \cdot 2 \cdot 10^{-4}$. L'action de l'acéclidine sur le muscle se manifeste à des concentrations relativement fortes. L'acéclidine à la concentration de 10^{-4} et l'acétylcholine à la concentration de 10^{-6} produisirent une contraction d'intensité égale.

Il est intéressant de noter qu'après administration répétée de la même dose d'acéclidine (après lavage), l'amplitude de la contraction du muscle diminua. Chez l'animal entier (chats narcosés et atropinisés), dans des expériences de stimulation par impulsions rectangulaires du bout périphérique du nerf

sciatique, l'acéclidine à la dose de 0,25-10 mg./kg. ne montra pas d'action notable sur la conduction neuro-musculaire.

L'acétylcholine à la dose de 1 mg./kg. détermina, dans ces conditions, une diminution de courte durée des contractions musculaires, caractéristique de l'action des substances dépolarisantes ''.

4°) Influence sur la cholinestérase et influence de la cholinestérase.

" Etant donné la nette influence de l'acéclidine sur les systèmes cholinergiques, il nous a semblé opportun de déterminer si l'acéclidine influait sur l'activité de la cholinestérase. Les expériences furent réalisées in vivo et in vitro. En prenant comme source d'enzyme le sérum de cheval non fractionné et une suspension de cerveau de cobaye à la dilution de 1/10, et comme objet test le muscle droit abdominal isolé de grenouille ou l'intestin isolé de lapin, nous avons constaté que l'acéclidine supprime l'activité de l'acétylcholinestérase et de la pseudo-cholinestérase. Après addition d'acéclidine à la source d'enzyme l'acétylcholine subissait une décomposition beaucoup moins marquée et il se produisait en conséquence une contraction plus intense du muscle.

Par rapport à l'ésérine, l'acéclidine se montra beaucoup moins active. L'acéclidine à la concentration de 1.10^{-4} et l'ésérine à la concentration de 1.10^{-7} - 1.10^{-8} montrèrent un effet analogue.

En ce qui concerne l'influence directe de l'acéclidine sur le muscle droit abdominal de grenouille, on constata un certain renforcement. Mais, sur ce point également, l'acéclidine se montra moins active que l'ésérine. Par application de différentes concentrations d'acéclidine - de 1.10^{-7} à 1.10^{-4} - nous avons observé une augmentation de l'ascension du levier enregistreur ne dépassant pas 2 - 2 fois et demie. L'action de l'ésérine, augmentant à mesure que la concentration augmentait, était beaucoup plus marquée. Une augmentation de 2 - 2 fois et demie de l'ascension du levier fut observée par application d'ésérine à la concentration de 10^{-7} .

Chez le chat sous narcose à l'uréthane, nous avons étudié l'influence de l'acéclidine sur les modifications de la circulation produite par stimulation du vague. Les substances anticholinestérasiques, stabilisant l'acétylcholine produit par cette stimulation, déterminent généralement un renforcement de la bradycardie et un allongement de l'effet hypotenseur. L'administration intra-veineuse d'acéclidine à la dose de 0,5 mg./kg. fut suivie de cet effet. Il fut toutefois peu marqué et bref. Les doses inférieures ne produisirent pas d'effet notable.

En relation avec l'effet anticholinestérasique de l'acéclidine, nous avons également étudié son influence sur l'activité curarisante de la diplacine et de la dilitine. Comme il fallait s'y attendre, l'action inhibitrice de la dilitine (20 mcg./kg.) sur la conduction neuro-musculaire fut renforcée sous l'action de l'acéclidine, alors que l'action de la diplacine (2 mg./kg.) fut affaiblie. Cependant, l'effet de l'acéclidine était beaucoup plus faible que celui de l'ésérine, alors que l'ésérine montra une influence nette à la dose de 0,05 - 0,1 mg./kg., l'acéclidine montra un effet modéré à la dose de 3 - 5 mg./kg.

La destruction de l'acéclidine sous l'influence de la cholinestérase a été étudiée in vitro en utilisant du sérum de cheval et une suspension de cerveau de cobaye et comme objet test le muscle dorsal de sangsue et l'intestin isolé de lapin, dont la réaction, comme l'ont montré les expériences préliminaires, reste constante par application répétée d'acéclidine. Des expériences ont été effectuées parallèlement avec l'acétylcholine.

Nous avons constaté que la pseudo-cholinestérase et l'acétylcholinestérase n'exercent aucune influence notable sur l'acéclidine. L'incubation pendant 10 - 30 minutes de l'acéclidine à la concentration finale de 1.10^{-4} avec les enzymes ne modifia pas sensiblement son activité, alors que l'activité de l'acétylcholine était déjà presque totalement supprimée après 3 minutes d'incubation.

Les résultats des expériences sur le muscle droit abdominal de grenouille sont également un indice de l'absence d'action notable de la cholinestérase sur l'activité de l'acéclidine. L'application d'ésérine à la concentration de 10^{-5} ne renforça pas sensiblement l'action sur le muscle de l'acéclidine à la concentration de 2.10^{-4} .

Ainsi l'acéclidine a une activité anticholinestérasique alors que la cholinestérase n'a pas d'action notable sur l'acéclidine ''.

- Conclusion -

La 3-acétoxy-quinuclidine présente une forte action cholinomimétique. Son emploi a été préconisé à l'étranger :

- a) En tant que médicament éliminant la parésie intestinale et l'atonie post-opératoire de la vessie : en chirurgie , gynécologie, urologie (2 à 3 ml. de solution à 0,2 p.100 par voie sous-cutanée).
- b) En clinique obstétricale : chez les femmes en état atonique et dans les cas de sub-involution de l'utérus.
- c) En ophtalmologie ; en tant que myotique et hypotenseur de la pression intra-oculaire dans le traitement du glaucome (gouttes ou pommades aux concentrations de 2 à 5 p.100).

L'utilisation des sels de 3-acétoxy-quinuclidine a pu entraîner quelques incidents suivants :

- Leur action cholinomimétique peut déclencher, après administration parentérale, une hypersalivation, diarrhée, sudation, signes qui, s'ils sont très marqués, peuvent être supprimés par administration sous-cutanée de 1 ml. de solution de sulfate d'atropine à 0,1 p. 100. Ses contre-indications sont celles de tous les cholinomimétiques : asthme, épilepsie, lésions cardiaques graves.
- Après administration dans le cul de sac conjonctival, il a été observé une faible irritation de la conjonctive avec injection des vaisseaux sanguins et, parfois, sensation de pesanteur de l'œil. Ces phénomènes secondaires disparaissent rapidement. (17, 19).

Cependant pour SHARTS et SHULPINA (17), dans le glaucome primaire, des solutions d'acéclidine de 3 à 5 % abaissent la tension oculaire sans provoquer d'effets secondaires indésirables malgré un long myosis.

ETUDE EXPERIMENTALE

Ce travail qui a été effectué sous la direction de Monsieur le Professeur BASTIDE lors des essais d'expertise toxicologique pharmacologique du C 162 D (1) et qui a également donné lieu à de nombreuses études de l'Institut CHIBRET porte successivement sur :

- A - L'étude toxicologique du C 162 D
- B - L'étude pharmacologique du C 162 D.

1. 2. 3. 4. 5. 6. 7. 8. 9. 10. 11. 12. 13. 14. 15. 16. 17. 18. 19. 20. 21. 22. 23. 24. 25. 26. 27. 28. 29. 30. 31. 32. 33. 34. 35. 36. 37. 38. 39. 40. 41. 42. 43. 44. 45. 46. 47. 48. 49. 50. 51. 52. 53. 54. 55. 56. 57. 58. 59. 60. 61. 62. 63. 64. 65. 66. 67. 68. 69. 70. 71. 72. 73. 74. 75. 76. 77. 78. 79. 80. 81. 82. 83. 84. 85. 86. 87. 88. 89. 90. 91. 92. 93. 94. 95. 96. 97. 98. 99. 100. 101. 102. 103. 104. 105. 106. 107. 108. 109. 110. 111. 112. 113. 114. 115. 116. 117. 118. 119. 120. 121. 122. 123. 124. 125. 126. 127. 128. 129. 130. 131. 132. 133. 134. 135. 136. 137. 138. 139. 140. 141. 142. 143. 144. 145. 146. 147. 148. 149. 150. 151. 152. 153. 154. 155. 156. 157. 158. 159. 160. 161. 162. 163. 164. 165. 166. 167. 168. 169. 170. 171. 172. 173. 174. 175. 176. 177. 178. 179. 180. 181. 182. 183. 184. 185. 186. 187. 188. 189. 190. 191. 192. 193. 194. 195. 196. 197. 198. 199. 200. 201. 202. 203. 204. 205. 206. 207. 208. 209. 210. 211. 212. 213. 214. 215. 216. 217. 218. 219. 220. 221. 222. 223. 224. 225. 226. 227. 228. 229. 230. 231. 232. 233. 234. 235. 236. 237. 238. 239. 240. 241. 242. 243. 244. 245. 246. 247. 248. 249. 250. 251. 252. 253. 254. 255. 256. 257. 258. 259. 260. 261. 262. 263. 264. 265. 266. 267. 268. 269. 270. 271. 272. 273. 274. 275. 276. 277. 278. 279. 280. 281. 282. 283. 284. 285. 286. 287. 288. 289. 290. 291. 292. 293. 294. 295. 296. 297. 298. 299. 300. 301. 302. 303. 304. 305. 306. 307. 308. 309. 310. 311. 312. 313. 314. 315. 316. 317. 318. 319. 320. 321. 322. 323. 324. 325. 326. 327. 328. 329. 330. 331. 332. 333. 334. 335. 336. 337. 338. 339. 340. 341. 342. 343. 344. 345. 346. 347. 348. 349. 350. 351. 352. 353. 354. 355. 356. 357. 358. 359. 360. 361. 362. 363. 364. 365. 366. 367. 368. 369. 370. 371. 372. 373. 374. 375. 376. 377. 378. 379. 380. 381. 382. 383. 384. 385. 386. 387. 388. 389. 390. 391. 392. 393. 394. 395. 396. 397. 398. 399. 400. 401. 402. 403. 404. 405. 406. 407. 408. 409. 410. 411. 412. 413. 414. 415. 416. 417. 418. 419. 420. 421. 422. 423. 424. 425. 426. 427. 428. 429. 430. 431. 432. 433. 434. 435. 436. 437. 438. 439. 440. 441. 442. 443. 444. 445. 446. 447. 448. 449. 450. 451. 452. 453. 454. 455. 456. 457. 458. 459. 460. 461. 462. 463. 464. 465. 466. 467. 468. 469. 470. 471. 472. 473. 474. 475. 476. 477. 478. 479. 480. 481. 482. 483. 484. 485. 486. 487. 488. 489. 490. 491. 492. 493. 494. 495. 496. 497. 498. 499. 500. 501. 502. 503. 504. 505. 506. 507. 508. 509. 510. 511. 512. 513. 514. 515. 516. 517. 518. 519. 520. 521. 522. 523. 524. 525. 526. 527. 528. 529. 530. 531. 532. 533. 534. 535. 536. 537. 538. 539. 540. 541. 542. 543. 544. 545. 546. 547. 548. 549. 550. 551. 552. 553. 554. 555. 556. 557. 558. 559. 560. 561. 562. 563. 564. 565. 566. 567. 568. 569. 570. 571. 572. 573. 574. 575. 576. 577. 578. 579. 580. 581. 582. 583. 584. 585. 586. 587. 588. 589. 590. 591. 592. 593. 594. 595. 596. 597. 598. 599. 600. 601. 602. 603. 604. 605. 606. 607. 608. 609. 610. 611. 612. 613. 614. 615. 616. 617. 618. 619. 620. 621. 622. 623. 624. 625. 626. 627. 628. 629. 630. 631. 632. 633. 634. 635. 636. 637. 638. 639. 640. 641. 642. 643. 644. 645. 646. 647. 648. 649. 650. 651. 652. 653. 654. 655. 656. 657. 658. 659. 660. 661. 662. 663. 664. 665. 666. 667. 668. 669. 670. 671. 672. 673. 674. 675. 676. 677. 678. 679. 680. 681. 682. 683. 684. 685. 686. 687. 688. 689. 690. 691. 692. 693. 694. 695. 696. 697. 698. 699. 700. 701. 702. 703. 704. 705. 706. 707. 708. 709. 710. 711. 712. 713. 714. 715. 716. 717. 718. 719. 720. 721. 722. 723. 724. 725. 726. 727. 728. 729. 730. 731. 732. 733. 734. 735. 736. 737. 738. 739. 740. 741. 742. 743. 744. 745. 746. 747. 748. 749. 750. 751. 752. 753. 754. 755. 756. 757. 758. 759. 760. 761. 762. 763. 764. 765. 766. 767. 768. 769. 770. 771. 772. 773. 774. 775. 776. 777. 778. 779. 780. 781. 782. 783. 784. 785. 786. 787. 788. 789. 790. 791. 792. 793. 794. 795. 796. 797. 798. 799. 800. 801. 802. 803. 804. 805. 806. 807. 808. 809. 810. 811. 812. 813. 814. 815. 816. 817. 818. 819. 820. 821. 822. 823. 824. 825. 826. 827. 828. 829. 830. 831. 832. 833. 834. 835. 836. 837. 838. 839. 840.

A - ETUDE TOXICOLOGIQUE

L'étude toxicologique du collyre C 162 D comprend les essais suivants :

1°) Détermination de la toxicité aiguë générale

- a) Détermination de la dose léthale 50 par voie I.V. chez la souris.
- b) Détermination de la dose léthale 50 par voie I.P. chez la souris.
- c) Détermination de la dose léthale 50 par voie I.P. chez le rat.
- d) Conclusion

2°) Détermination de la tolérance locale aiguë chez le lapin

3°) Détermination de la tolérance locale chronique chez le lapin .

1° - DETERMINATION DE LA TOXICITE AIGUE GENERALE -

a) Détermination de la dose léthale 50 du C 162 D par voie intra-veineuse chez la souris :

1 - Généralités :

La méthode employée pour le calcul de la DL 50 est celle décrite par KARBER et BEHRENS (8, 3, 4).

2 - Essai préliminaire :

Nous avons procédé à un essai préliminaire pour déterminer la zone d'essai définitif, qui doit se situer entre la plus forte dose à laquelle tous les animaux ont survécu, et la plus faible dose à laquelle tous les animaux ont succombé.

- Mode opératoire : Nous avons opéré sur quatre lots de 6 souris albinos " Swiss ", de 18-20 g., provenant du même élevage et soumises à un régime préalable identique (Provende Extra-Labo et eau fraîche à volonté). Le C162D est injecté par voie intra-veineuse sous forme de solution aqueuse. Les doses administrées sont en progression géométrique de raison 1, 8 et exprimées en chlorhydrate de 3 - acétoxy-quinuclidine.
- Résultats : Ils sont condensés dans le tableau ci-joint (tableau 1). De ce tableau on peut déduire que la plus forte dose à laquelle tous les animaux ont survécu est 0,010 g./kg., et que la plus faible dose à laquelle tous les animaux ont succombé est 0,058 g./kg.

Ces deux doses délimitent la zone dans laquelle on effectuera l'essai définitif.

TABLEAU N° 1 -

C 162 D
DL 50 CHEZ LA SOURIS
PAR VOIE INTRA-VEINEUSE.

| ESSAI PRELIMINAIRE
Raison 1,8 | | | | |
|--|-------|-------|--------|-------|
| Doses (en g. de chlorhydrate de
3-acétoxy-quinuclidine par kg. de
poids corporel). | 0,010 | 0,018 | 0,0324 | 0,058 |
| Nombre d'animaux | 6 | 6 | 6 | 6 |
| Nombre de morts en 24 h. | 0 | 1 | 4 | 6 |
| Nombre de morts en 48 h. | 0 | 1 | 4 | 6 |
| Nombre total des morts | 0/6 | 1/6 | 4/6 | 6/6 |

3 - Essai définitif :

- Mode opératoire : Cet essai est pratiqué, comme le précédent, sur des souris albinos " Swiss ", de 18 - 20 g. (mâles et femelles), provenant d'un même élevage et soumises à un régime préalable identique.

Les doses administrées par voie intra-veineuse sont en progression géométrique de raison 1,3 et relatives à 6 lots de 12 animaux.

La mortalité a été notée au bout de 24 heures et de 48 heures. La mort survient rapidement (10 à 15 minutes). L'animal présente des tremblements intenses, une hypersialorrhée, des convulsions clonico-toniques, une sudation importante et de la dyspnée.

- Résultats : Ils figurent dans le tableau ci-joint (tableau 2).

4 - Conclusion :

La détermination de la DL 50 par la méthode de KARBET et BEHRENS, explicitée dans ce tableau 2 donne :

DL 50, I.V., sur SOURIS = 0,027 g./kg. exprimés en chlorhydrate de 3-acétoxy-quinuclidine .

TABLEAU N° 2 -

C 162 D
DL 50 CHEZ LA SOURIS
PAR VOIE INTRA-VEINEUSE

| ESSAI DEFINITIF
Raison 1, 3 | | | | | | |
|---|--------|--------|--------|--------|--------|----------------|
| Doses (en g. de Chte de
3-acétoxy-quinuclidine
par kg. de poids corporel) | 0, 012 | 0, 016 | 0, 020 | 0, 026 | 0, 034 | 0, 044 =
Df |
| Nombre d'animaux | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 | 12 |
| Nombre de morts en 24 h. | 0 | 2 | 4 | 6 | 8 | 12 |
| Nombre de morts en 48 h. | 0 | 2 | 4 | 6 | 8 | 12 |
| Nombre total des morts | 0/12 | 2/12 | 4/12 | 6/12 | 8/12 | 12/12 |

TABLEAU N° 2 (suite)
(calcul de la DL 50)

$$\begin{array}{lcl}
 \text{a - somme des morts de} & & \\
 \text{2 lots consécutifs} & = & \frac{0 + 2}{2} = 1 \quad \frac{6 + 8}{2} = 7 \\
 2 & & \\
 & & \frac{2 + 4}{2} = 3 \quad \frac{8 + 12}{2} = 10 \\
 & & \frac{4 + 6}{2} = 5
 \end{array}$$

$$\begin{array}{lcl}
 \text{b - Différence entre 2} & & \\
 \text{doses consécutives} & = & 0,016 - 0,012 = 0,004 \\
 & & 0,020 - 0,016 = 0,004 \\
 & & 0,026 - 0,020 = 0,006 \\
 & & 0,034 - 0,026 = 0,008 \\
 & & 0,044 - 0,034 = 0,010
 \end{array}$$

$$\begin{array}{lcl}
 \text{a x b =} & & 1 \quad \times \quad 0,004 = 0,004 \\
 & & 3 \quad \times \quad 0,004 = 0,012 \\
 & & 5 \quad \times \quad 0,006 = 0,030 \\
 & & 7 \quad \times \quad 0,008 = 0,056 \\
 & & 10 \quad \times \quad 0,010 = 0,100
 \end{array}$$

$$\text{DL 50} = \text{Df} - \frac{\xi (\text{a x b})}{n}$$

$$\text{DL 50} = 0,044 - \frac{0,202}{12} = 0,027 \text{ g./kg.}$$

exprimés en chlorhydrate de 3 acétoxy-quinuclidine.

b) Détermination de la dose létale 50 du C 162 D par voie intra-péritonéale chez la souris :

1 - Généralités :

La méthode employée pour le calcul de la DL 50 est celle décrite par KARBER et BEHRENS (8, 3, 4).

2 - Essai préliminaire :

Nous avons procédé à un essai préliminaire pour déterminer la zone de l'essai définitif, qui doit se situer entre la plus forte dose à laquelle tous les animaux ont survécu, et la plus faible dose à laquelle tous les animaux ont succombé.

- Mode opératoire : Nous avons opéré sur quatre lots de 6 souris albinos " Swiss ", de 18-20 g., provenant du même élevage, et soumises à un régime préalable identique (Provende Extra-Labo et eau fraîche à volonté). Le C162D est injecté par voie intra-péritonéale, sous forme de solution aqueuse.

Les doses administrées sont en progression géométrique de raison 1,5 et exprimées en chlorhydrate de 3-acétoxy-quinuclidine.

- Résultats : Ils sont condensés dans le tableau ci-joint (tableau 1). De ce tableau, on peut déduire qu'avec le principe actif du C 162 D, la plus forte dose à laquelle tous les animaux ont survécu est de 0,060 g./kg., et que la plus faible dose à laquelle tous les animaux ont succombé est 0,202 g./kg.

Les deux doses délimitent la zone dans laquelle on effectuera l'essai définitif.

TABLEAU N° 1 -

C 162 D
DL 50 SUR SOURIS
PAR VOIE INTRA-PERITONEALE

| ESSAI PRELIMINAIRE | | | | |
|--|-------|-------|-------|-------|
| Doses (en g. de chlorhydrate de 3-acétoxy-quinuclidine par kg. de poids corporel). | 0,060 | 0,090 | 0,135 | 0,202 |
| Nombre d'animaux | 6 | 6 | 6 | 6 |
| Nombre de morts en 24 h. | 0 | 1 | 4 | 6 |
| Nombre de morts en 48 h. | 0 | 1 | 4 | 6 |
| Nombre de morts | 0/6 | 1/6 | 4/6 | 6/6 |

3 - Essai définitif :

- Mode opératoire : Cet essai est pratiqué comme les précédents, sur des souris albinos de 18-20 g. (mâle et femelle), provenant d'un même élevage et soumises à un régime préalable identique.

Les doses administrées par voie intra-péritonéale sont en progression géométrique de raison 1,3 et relatives à 5 lots de 6 animaux.

La mortalité a été notée au bout de 24 heures et de 48 heures. La mort survient dans les 10 à 15 minutes suivant l'injection. Elle est précédée de tremblements, d'hypersialorrhée, de convulsions clonico-toniques, de sudation et de dyspnée.

- Résultats : Ils figurent dans le tableau ci-joint (tableau 2).

4 - Conclusion :

La détermination de la DL 50 par la méthode de KARBEN et BEHRENS, explicitée dans ce tableau 2 donne :

DL 50, I.P., sur SOURIS = 0,116 g./kg.
exprimés en chlorhydrate de 3 - acétoxy-
quinuclidine.

TABLEAU N° 2 -

C 162 D

DL 50 SUR SOURIS

PAR VOIE INTRA-PERITONEALE

| ESSAI DEFINITIF
Raison 1,3 | | | | | |
|---|-------|-------|-------|-------|---------------|
| Doses (en g. de chte de 3-acétoxy-quinuclidine par kg. de poids corporel). | 0,060 | 0,078 | 0,101 | 0,132 | 0,171
= Df |
| Nombre d'animaux | 6 | 6 | 6 | 6 | 6 |
| Nombre de morts en 24 h. | 0 | 1 | 2 | 4 | 6 |
| Nombre de morts en 48 h. | 0 | 1 | 2 | 4 | 6 |
| Nombre total de morts | 0/6 | 1/6 | 2/6 | 4/6 | 6/6 |

$$DL\ 50 = Df. - \frac{\xi(a \times b)}{n}$$

DL 50 I. P. sur SOURIS = 0,171 - $\frac{0,3315}{6}$ = 0,116 g./kg. exprimés en en chlorhydrate de 3-acétoxy-quinuclidine.

c) Détermination de la dose léthale 50 du C 162 D par voie intra-péritonéale chez le rat.

1 - Généralités :

La méthode employée pour le calcul de la DL 50 est celle décrite par KARBER et BEHRENS (8, 3, 4).

2 - Essai préliminaire :

Nous avons procédé à un essai préliminaire pour déterminer la zone de l'essai définitif, qui doit se situer entre la plus forte dose à laquelle tous les animaux ont survécu, et la plus faible dose à laquelle tous les animaux ont succombé.

- Mode opératoire : Nous avons opéré sur quatre lots de 6 rats " Wistar " albinos, de 200-220 g., provenant du même élevage et soumis à un régime préalable identique (Provende Extra-Labo et eau fraîche à volonté).

Le C 162 D est injecté par voie intra-péritonéale, sous forme de solution aqueuse. Les doses administrées sont en progression géométrique de raison 1,7 et exprimées en chlorhydrate de 3-acétoxy-quinuclidine.

- Résultats : Ils sont condensés dans le tableau ci-joint (tableau 1). La plus forte dose à laquelle tous les animaux ont survécu est 0,060 g./kg., et la plus faible dose à laquelle tous les animaux ont succombé est 0,294 g./kg.

Les deux doses délimitent la zone dans laquelle on effectuera l'essai définitif.

TABLEAU N° 1 -

C 162 D
DL 50 SUR RATS
PAR VOIE INTRA-PERITONEALE

| ESSAI PRELIMINAIRE | | | | |
|--|-------|-------|-------|-------|
| Doses (en g. de chte de 3-ace-
toxy-quinuclidine par kg. de
poids corporel). | 0,060 | 0,102 | 0,173 | 0,294 |
| Nombre d'animaux | 6 | 6 | 6 | 6 |
| Nombre de morts en 24 h. | 0 | 3 | 5 | 6 |
| Nombre de morts en 48 h. | 0 | 3 | 5 | 6 |
| Nombre total de morts | 0/6 | 3/6 | 5/6 | 6/6 |

3 - Essai définitif :

- Mode opératoire :

Cet essai est pratiqué, comme le précédent, sur des rats " Wistar ", de 200-220 g., provenant d'un même élevage, et soumis à un régime préalable identique.

Les doses administrées par voie intra-péritonéale sont en progression géométrique de raison 1,3.

La mortalité est notée au bout de 24 heures et de 48 heures. La mort survient en 10 minutes ou presque instantanément à la dose forte. Elle est précédée de tremblements, spasmes respiratoires, hypersialorrhée, sudation (surtout aux faibles doses), convulsions, chromodacryorrhée.

- Résultats :

Ils figurent dans le tableau ci-joint (tableau 2).

4 - Conclusion :

La détermination de la DL 50 par la méthode de KARBEN et BEHRENS explicitée dans le tableau 2 donne :

DL 50, I.P., sur RAT = 0,105 g./kg. exprimés en
chlorhydrate de 3-acétoxy-quinuclidine.

TABLEAU N° 2 -

C 162 D

DL 50 SUR RATS

PAR VOIE INTRA-PERITONEALE

| ESSAI DEFINITIF
Raison 1, 3 | | | | | |
|--|-------|-------|-------|-------|----------------|
| Doses (en g. de chte de
3-acétoxy-quinuclidine par
kg. de poids corporel). | 0,065 | 0,084 | 0,110 | 0,143 | 0,185
= Df. |
| Nombre d'animaux | 6 | 6 | 6 | 6 | 6 |
| Nombre d'animaux morts
en 24 heures. | 0 | 2 | 4 | 5 | 6 |
| Nombre d'animaux morts
en 48 heures. | 0 | 2 | 4 | 5 | 6 |
| Nombre total de morts | 0/6 | 2/6 | 4/6 | 5/6 | 6/6 |

$$DL\ 50 = Df. - \frac{\sum (a \times b)}{n}$$

DL 50, I. P., sur RAT = $0,185 - \frac{0,481}{6} = 0,105$ g./kg.
 exprimés en chlorhydrate de 3-acétoxy-quinuclidine.

d) Conclusions :

Les essais de détermination de la toxicité aiguë, par voie générale, nous permettent de conclure que le chlorhydrate de 3-acétoxy-quinuclidine, principe actif du collyre C 162 D, présente une certaine toxicité comme cela est de règle avec les agents parasymphaticomimétiques puissants (pilocarpine par exemple).

Les DL 50 obtenues sont, respectivement :

- | | |
|---------------------------|----------------|
| - DL 50, I.V., sur SOURIS | = 0,027 g./kg. |
| - DL 50, I.P., sur SOURIS | = 0,116 g./kg. |
| - DL 50, I.P., sur RAT | = 0,105 g./kg. |

Il nous a paru intéressant de mettre ces données en parallèle avec quelques résultats obtenus avec le nitrate de pilocarpine.

Pour ce dernier :

- | | |
|---------------------------|--|
| - DL 50, I.P., sur SOURIS | = 0,213 g./kg. |
| - DL 50, I.P., sur RAT | = comprise entre
0,200 et 0,400 mg./kg. |

Le chlorhydrate d'acéclidine paraît présenter une toxicité aiguë plus élevée que celle du nitrate de pilocarpine.

2° - DETERMINATION DE LA TOLERANCE LOCALE AIGUE :

Nous avons utilisé comme animal d'expérience le lapin dont les réactions oculaires sont aisées à contrôler.

a) Principe de la méthode :

Un collyre, instillé plusieurs fois par jour, chez le lapin, pendant une semaine, sans déterminer de trouble notable est considéré comme présentant une bonne tolérance aiguë.

b) Protocole expérimental :

1) Choix des animaux :

Nous avons utilisé un lot de 6 lapins albinos n°B7, C7, P7, J2, J4, I4 (soit 3 mâles et 3 femelles).

2) Conditions expérimentales :

Ces lapins ont reçu tous les jours, pendant 7 jours 6 instillations quotidiennes de 2 gouttes de collyre C 162 D, dans l'oeil gauche, l'oeil droit servant de témoin.

Les yeux très soigneusement examinés, avant le début du traitement, l'ont été également en cours et en fin d'expérience, en chambre noire, à la lampe d'examen puis au biomicroscope.

c) Résultats :

1) Examen avant traitement :

Nous n'avons relevé aucune hyperhémie conjonctivale. La sensibilité cornéenne était de 2,5 à l'esthésiomètre. Le contour pupillaire était rond et le réflexe photomoteur positif. La fluorescéine n'a décelé aucune ulcération de la cornée.

2) Réaction à la première instillation :

Nous n'avons noté aucune réaction locale douloureuse au niveau de l'oeil traité. Nous avons observé par ailleurs, chez

tous les animaux, une hypersialorrhée (8 ml. en 8 h.) se déclenchant quelques minutes après l'instillation et se poursuivant plusieurs heures.

3) Examen effectué 3 jours après le début du traitement :

Nous avons noté au niveau de l'oeil traité :

- Une hyperhémie de la conjonctive palpébrale et bulbaire, s'étendant à la nictitante.
- L'absence de photophobie, de sécrétion ou d'œdème palpébral (notons seulement chez J2 la formation d'un exsudat blanchâtre, après contact du collyre avec l'oeil).
- Une sensibilité de 2,5 à l'esthésiomètre.
- Un contour pupillaire rond, en myosis.
- Un réflexe photomoteur rendu presque inexistant par suite du myosis déterminé par le collyre.
- L'absence d'ulcération de la cornée révélée par la fluorescéine.

4) Examen effectué 7 jours après le début du traitement :

Nous avons noté au niveau de l'oeil traité :

- Une hyperhémie assez marquée des conjonctives bulbaires et palpébrales et de la nictitante.
- L'absence de sécrétion, d'œdème ou de photophobie (J2 et C7 présentent après contact du collyre avec l'oeil un liquide blanchâtre dans le sac conjonctival).
- Une sensibilité cornéenne normale à l'esthésiomètre.
- Un contour pupillaire rond en myosis.
- Un réflexe photomoteur rendu pratiquement nul par suite du myosis.
- L'absence d'ulcération de la cornée à la fluorescéine.

Remarques :

- L'oeil témoin n'a présenté aucune modification de son comportement.
- Sur un lot de 3 lapins nous avons effectué un test de Régnier (15) à l'esthésiomètre après instillation de collyre C 162 D et nous n'avons décelé aucune trace d'activité anesthésique locale.

d) Conclusion :

Il résulte de notre expérimentation que la tolérance locale aiguë du collyre C 162 D peut être considérée comme convenable.

3° - DETERMINATION DE LA TOLERANCE LOCALE CHRONIQUE.

Nous avons utilisé le lapin comme animal d'expérience :

a) Protocole expérimental :1) Choix des animaux :

Nous avons utilisé un lot de 6 lapins albinos (3 mâles et 3 femelles) n° A1, A3, A5, B2, B6, et B8.

2) Conditions expérimentales :

Dans cette série expérimentale, nous avons instillé le collyre C 162 D à ce lot de 6 lapins, à raison de 2 instillations quotidiennes, une le matin, une le soir, pendant 30 jours consécutifs dans l'oeil gauche, l'oeil droit servant de témoin. Chaque animal a d'abord été soigneusement examiné avant le traitement, puis après la première instillation, ensuite après 15 et 30 jours de traitement.

b) Résultats :1) Examen avant traitement :

Nous n'avons noté aucune hyperhémie conjonctivale. La sensibilité cornéenne était de 2,5 à l'esthésiomètre. Le contour pupillaire était rond et le réflexe photomoteur positif.

La fluorescéine n'a révélé aucune ulcération cornéenne.

2) Réaction à la première instillation :

Nous n'avons noté aucune réaction locale douloureuse au niveau de l'oeil. Nous avons observé, par ailleurs, chez tous les animaux une hypersialorrhée se déclenchant quelques minutes après l'instillation et se poursuivant plusieurs heures.

3) Examen effectué 15 jours après le début du traitement :

Nous avons noté au niveau de l'oeil traité :

- Une hyperhémie conjonctivale et bulbaire, s'étendant à la nictitante.
- L'absence de sécrétion, de photophobie ou d'œdème palpébral.
- Une sensibilité de 2,5 à l'esthésiomètre.
- Un contour pupillaire rond en myosis.
- Un réflexe photomoteur rendu inexistant à cause du myosis déterminé par le collyre.
- L'absence d'ulcération cornéenne révélée par la fluorescéine.

4) Examen effectué 30 jours après le début du traitement :

Nous avons noté au niveau de l'oeil traité :

- Une hyperhémie conjonctivale et bulbaire s'étendant à la nictitante.
- L'absence de sécrétion, d'œdème palpébral ou de photophobie.
- Une sensibilité de 2,5 à l'esthésiomètre.

B - ETUDE PHARMACOLOGIQUE

L'étude pharmacologique du C 162 D comprend les essais suivants :

- 1°) Mise en évidence des propriétés cholinomimétiques générales du chlorhydrate de 3-acétoxy-quinuclidine.
 - a) Sur la tension artérielle et la respiration chez le lapin.
 - b) Sur les organes isolés.
 - 2°) Influence de la cholinestérase sur le chlorhydrate de 3-acétoxy-quinuclidine et influence du chlorhydrate de 3-acétoxy-quinuclidine sur l'activité de la cholinestérase.
 - 3°) Mise en évidence des propriétés du collyre C 162 D sur le globe oculaire (test au pupillomètre chez le lapin).
 - 4°) Influence du collyre C 162 D sur la dilatation pupillaire provoquée par l'atropine.
 - 5°) Métabolisme du chlorhydrate de 3-acétoxy-quinuclidine après administration intra-oculaire.
-

1°) MISE EN EVIDENCE DES PROPRIETES CHOLINOMIMETIQUES GENERALES DU CHLORHYDRATE DE 3-ACETOXY-QUINUCLIDINE.

- Généralités :

Les observations pratiquées lors des essais de toxicité aiguë par voie générale nous avaient déjà mis en évidence tous les symptômes de l'intoxication par un agent cholinomimétique puissant. Nous avons noté les effets généraux observés avec les parasymphaticomimétiques : spasmes bronchiques, myosis, augmentation des sécrétions, en particulier salivaires et sudorales, chromodacryorrhée. Nous avons donc recherché les effets du chlorhydrate de 3-acétoxy-quinuclidine. :

a) sur la tension artérielle et la respiration chez le lapin.

b) sur les organes isolés : duodénum du rat.

a) Action sur la tension artérielle et la respiration chez le lapin :

1 - Principe :

Chez des lapins albinos anesthésiés à l'uréthane, on enregistre simultanément la respiration et la pression artérielle. Le but de l'expérience est d'étudier les variations tensionnelles et respiratoires après injection intra-veineuse d'une solution de chlorhydrate de 3-acétoxy-quinuclidine.

2 - Technique :

Six lapins de 2,5 à 4 kg. sont anesthésiés par administration intra-péritonéale d'uréthane à raison de 1 g./kg. sous forme de solution à 0,5 g./ml.

Il est procédé à la mise en place d'une canule dans l'artère carotide reliée à l'aide d'un liquide manométrique. (sulfate de magnésium : 100 g., sulfate de sodium : 100 g., eau q.s.p. 1 litre) à un manomètre à mercure (type Ludwig).

Les mouvements respiratoires sont enregistrés à l'aide du pneumographe de Paul Bert.

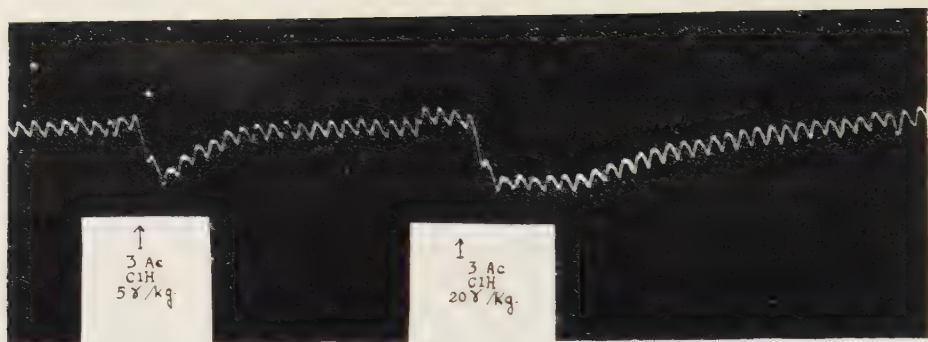
3) Description des phénomènes :

(clichés ci-joints : N° 1 et 2)

- On s'assure que les deux tracés représentant la pression artérielle et la respiration s'inscrivent régulièrement.
- L'administration du chlorhydrate de 3-acétoxy-quinuclidine est encadrée par les réponses observées, après injection intra-veineuse d'adrénaline (8 mcg./kg.) et après occlusion de la seconde carotide.
- L'occlusion de la seconde carotide entraîne, suivant les animaux, une hypertension de 15 à 30 mm. de mercure . La pression artérielle revient à son niveau primitif dès qu'on cesse de pincer la carotide.
- Une injection intra-veineuse de 8 mcg./kg. d'adrénaline produit une hypertension de 40 mm. de mercure. La pression revient rapidement à sa valeur initiale.
- Après injection intra-veineuse de 5 mcg./kg. d'une solution de chlorhydrate de 3-acétoxy-quinuclidine, on observe une brève diminution de 10-15 mm. de mercure de la pression artérielle. La respiration n'est pas modifiée.
- Des doses de 10 et 20 mcg/kg. développent de très nettes variations tensionnelles : l'hypotension se traduit sur le kymogramme par un crochet d'une hauteur de 30 mm. de mercure. La pression artérielle revient à sa valeur initiale 2 minutes après l'injection. Simultanément, l'amplitude des mouvements respiratoires diminue tandis que leur fréquence augmente. Puis, la respiration redevient normale rapidement.
- L'injection intra-veineuse de 80 mcg./kg. de chlorhydrate de 3-acétoxy-quinuclidine entraîne une diminution de la pression artérielle de l'ordre de 35 mm. relativement durable (8 minutes). Les mouvements respiratoires sont moins amples et leur fréquence plus importante.

4) Conclusion :

Chez le lapin, l'injection intra-veineuse de chlorhydrate de 3-acétoxy-quinuclidine, à des doses croissantes, entraîne des modifications de la courbe tensionnelle : l'intensité et la



Cliché N° 1 : Action sur la tension artérielle du lapin du chlorhydrate de 3-acétoxy-quinuclidine (3-Ac C1H) aux doses de 5 et 20 mcg./kg.



Cliché N° 2 : Action sur la tension artérielle et la respiration du Lapin du chlorhydrate de 3-acétoxy-quinuclidine (3-Ac C1H) à la dose de 10 mcg./kg.

durée des hypotensions est proportionnelle à la dose injectée. L'amplitude et la fréquence des mouvements respiratoires peuvent être modifiées, surtout dans le cas de fortes doses de 3-acétoxy-quinuclidine.

b) Action sur les organes isolés (duodénum de Rat) .

1) Principe :

Ces expériences ont pour but de rechercher l'action pharmacodynamique du chlorhydrate de 3-acétoxy-quinuclidine sur des préparations isolées de duodénum de rat maintenues en survie dans un liquide approprié selon la technique de MAGNUS (9).

2) Technique :

- Choix du matériel : Le montage des préparations expérimentées a nécessité l'emploi d'un bain-marie thermostatique " type Valette " (Ets. JOUAN) pour organes isolés d'animaux homéothermes.

- Choix des réactifs : Le liquide de Tyrode correspond à la formule suivante :

- Chlorure de Sodium 8,0 g.
- Chlorure de Potassium 0,2 g.
- Chlorure de Calcium 0,2 g.
- Chlorure de Magnésium..... 0,1 g.
- Glucose 1,5 g.
- Carbonate monosodique q.s.p. pH convenable (7,2)
- Eau distillée q.s.p. 1000 ml.

Toutes les solutions des produits expérimentés sont effectuées dans le Tyrode.

- Choix des animaux : Sur un rat albinos de race Wistar, d'un poids de 150 à 200 g., à jeun depuis 24 heures, saigné par section des carotides, on prélève rapidement par laparotomie médiane, un fragment de 6 à 10 cm. de duodénum dès la fin de l'estomac, en éliminant toutefois le sphincter pylorique, libéré de son mésentère.

Immergé sans tarder dans le bain de Tyrode froid, il est vidé de son contenu par lavages successifs à la seringue. On isole un fragment de 1 à 2 cm. limité à ses deux extrémités

par deux ligatures lâches, qui serviront secondairement à le relier à la tige support et au levier du myographe.

Ainsi paré, l'organe isolé est installé dans la cuve d'expérimentation. Remplie de liquide de Tyrode, jusqu'au trait de jauge (25 ml.) et convenablement aérée, cette dernière est toujours plongée dans le bain thermostatique réglé à $38^{\circ}5$. L'intestin isolé y est abandonné à un repos de 20 minutes environ, interrompu seulement par plusieurs lavages au Tyrode tiédi à $38^{\circ}5$. L'expérimentation commence lorsque le segment est stabilisé, la décontraction achevée.

3) Résultats :

Ils portent sur 15 animaux :

- Description des effets enregistrés :

Sur le duodénum de Rat, la dose liminaire active du chlorhydrate de 3-acétoxy-quinuclidine est de l'ordre de 10^{-8} .

Des concentrations plus élevées (de 10^{-8} à $0,75 \cdot 10^{-7}$) exercent une action contracturante monophasique proportionnelle à la quantité de chlorhydrate de 3-acétoxy-quinuclidine.

Des doses plus importantes (10^{-7}) deviennent paralysantes.

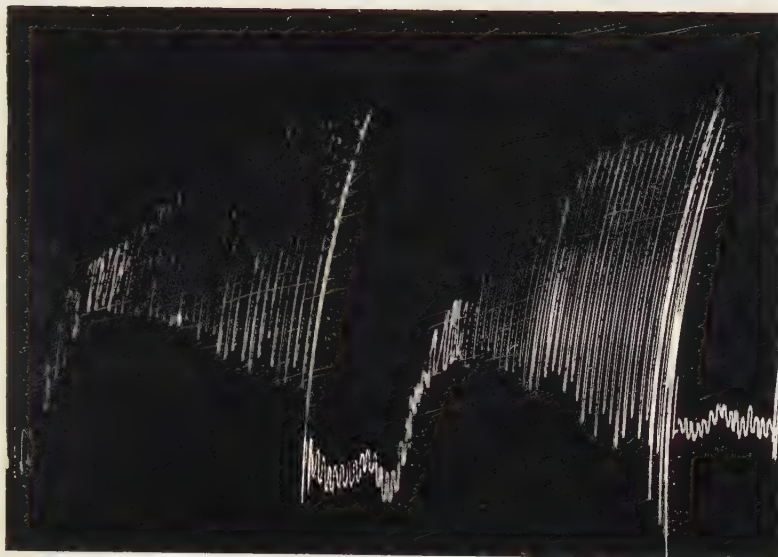
En même temps que l'action contracturante, le chlorhydrate de 3-acétoxy-quinuclidine renforce les oscillations pendulaires de l'intestin (cliché n° 3).

Des applications répétées de chlorhydrate de 3-acétoxy-quinuclidine à la même concentration produisent un effet identique.

- Caractères des effets provoqués par le chlorhydrate de 3 - acétoxy-quinuclidine.

Mise en évidence de l'effet cholinergique :

L'action spasmogène provoquée par le chlorhydrate de 3-acétoxy-quinuclidine sur le duodénum isolé de rat, est diminuée ou supprimée par l'administration préalable de concentrations variables de sulfate d'atropine (cliché n° 4).

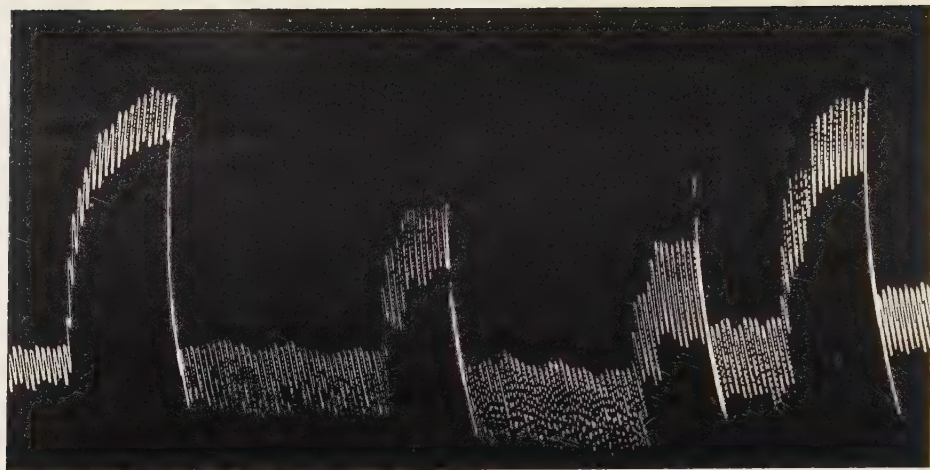


$\updownarrow$
 $\begin{matrix} 3 \text{ Ac} \\ \text{ClH} \end{matrix}$
 $0,5 \cdot 10^{-7}$

$\updownarrow$
 $\begin{matrix} 3 \text{ Ac} \\ \text{ClH} \end{matrix}$
 $0,5 \cdot 10^{-7}$

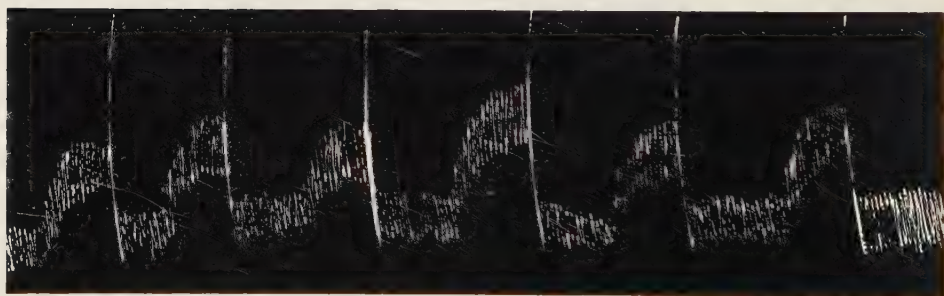
Cliché N° 3 :

Action propre du chlorhydrate de 3-acétoxy-quinuclidine
 (3-Ac ClH) sur le duodénum isolé de rat.



$\uparrow$ 3 Ac
 ClH $0,5 \cdot 10^{-7}$
 $\uparrow$ AT $0,5 \cdot 10^{-8}$
 $\uparrow$ 3 Ac
 ClH $0,5 \cdot 10^{-7}$
 $\uparrow$ AT $0,5 \cdot 10^{-8}$
 $\uparrow$ 3 Ac
 ClH $0,5 \cdot 10^{-7}$
 $\uparrow$ 3 Ac
 ClH $0,5 \cdot 10^{-7}$

Cliché N° 4 : Action cholinergique du chlorhydrate de 3-acétoxy-quinuclidine (3-Ac ClH) sur le duodénum isolé de Rat, vis à vis de l'antagonisme déclenché par l'atropine (AT).



$\uparrow$ PILO $0,5 \cdot 10^{-6}$
 $\uparrow$ PILO $0,5 \cdot 10^{-6}$
 $\uparrow$ 3 Ac
 ClH $0,2 \cdot 10^{-7}$
 $\uparrow$ 3 Ac
 ClH $0,3 \cdot 10^{-7}$
 $\uparrow$ PILO $0,5 \cdot 10^{-6}$
 $\uparrow$ PILO $0,5 \cdot 10^{-6}$

Cliché N° 5 : Action parasympathicomimétique comparée du chlorhydrate de 3-acétoxy-quinuclidine (3-Ac ClH) et de la pilocarpine (PILO) sur le duodénum isolé de Rat.

Une dose de sulfate d'atropine de $0,5 \times 10^{-7}$ supprime totalement l'action d'une dose élevée de chlorhydrate de 3-acétoxy-quinuclidine ($0,5 \times 10^{-7}$).

A des concentrations inférieures ($0,5 \times 10^{-8}$), le sulfate d'atropine diminue de 50 p. cent l'action contracturante de chlorhydrate de 3-acétoxy-quinuclidine.

Cette action contracturante peut être considérée comme résultant d'un mécanisme de type cholinergique dont les effets se situent au niveau des neurones post-ganglionnaires.

- Comparaison avec un autre parasymphicomimétique : la Pilocarpine.

Une dose de nitrate de pilocarpine $0,5 \times 10^{-6}$ a une action contracturante légèrement inférieure à une dose de chlorhydrate de 3-acétoxy-quinuclidine de $0,3 \times 10^{-7}$ et un peu supérieure à $0,2 \times 10^{-7}$. Il est permis de conclure de ces résultats que le chlorhydrate de 3-acétoxy-quinuclidine exerce sur la fibre intestinale isolée une action 25 à 30 fois plus importante que celle de la pilocarpine (cliché n° 5).

4 - C o n c l u s i o n :

Sur le duodénum isolé de rat, nous avons noté, dans les conditions de nos expériences que :

- De faibles concentrations de chlorhydrate de 3-acétoxy-quinuclidine exercent une action spasmogène monophasique.
- Le chlorhydrate de 3-acétoxy-quinuclidine s'est montré environ 25 fois plus actif que le nitrate de pilocarpine.
- L'action cholinergique de 3-acétoxy-quinuclidine peut être mise en évidence en fonction du rapport avec l'antagonisme développé par le sulfate d'atropine.

2° - INFLUENCE DE LA CHOLINESTERASE SUR L'ACTION DU CHLORHYDRATE DE 3-ACETOXY-QUINUCLIDINE ET INFLUENCE DU CHLORHYDRATE DE 3-ACETOXY-QUINUCLIDINE SUR L'ACTIVITE DE LA CHOLINESTERASE.

- Généralités -

Après avoir mis en évidence les propriétés cholinomimétiques du chlorhydrate de 3-acétoxy-quinuclidine, il nous a semblé important de rechercher le comportement de ce corps vis-à-vis de la cholinestérase.

Nous avons essayé, par des techniques différentes, de vérifier ces résultats en étudiant in vivo des variations au niveau de la pression carotidienne du lapin et in vitro les contractions du muscle dorsal de sangsue.

- Expérimentation -

a) Influence de la cholinestérase sur l'action du chlorhydrate 3-acétoxy-quinuclidine :

- Etude in vivo par enregistrement de la pression carotidienne du lapin :

1 - Technique :

Trois lapins de 4 kg. environ sont anesthésiés par administration intra-péritonéale d'uréthane à raison de 1 g./kg. sous forme de solution à 0,5 g./ml. Il est procédé à la mise en place d'une canule dans l'artère carotide. Les différentes préparations sont injectées dans la veine saphène.

2 - Résultats :

Vérifier que le tracé représentant l'enregistrement de la pression carotidienne s'inscrit régulièrement.

La sensibilité du lapin est testée par des injections régulières d'adrénaline (7,5 mcg./kg.). L'administration intra-veineuse de 7,5 mcg./kg. d'adrénaline produit une hypertension de 40 mm. de mercure.

L'injection intra-veineuse de 7,5 mcg./kg. d'acétylcholine développe une hypotension de l'ordre de 25 mm. de mercure. Des doses de chlorhydrate de 3-acétoxy-quinuclidine de 7,5 mcg./kg. et 10 mcg./kg. injectées dans la veine saphène provoquent des baisses de tensions voisines de 10 et 15 mm. de mercure.

L'administration par voie intra-veineuse de 50 mcg./kg. de salicylate d'ésérine n'entraîne aucune modification de l'enregistrement de la pression carotidienne. Après cette dernière injection et jusqu'à la fin de notre expérience, la sensibilité du lapin à l'acétylcholine est multipliée par 7 environ : en effet, dans nos conditions expérimentales, le crochet hypotenseur, dû à l'injection de 7,5 mcg./kg. d'acétylcholine en début d'expérimentation est obtenu après ésérine, avec 1 mcg./kg. d'acétylcholine. Par contre, des doses de chlorhydrate de 3-acétoxy-quinuclidine de 7,5 mcg./kg. et 10 mcg./kg., ne se trouvent pas potentialisées après cette administration intra-veineuse d'ésérine : en effet les crochets hypotenseurs sont identiques à ceux obtenus en début d'expérimentation.

En fin d'expérience, l'injection intra-veineuse de 1 mcg./kg. d'acétylcholine est toujours suivie d'une hypotension voisine de 25 mm. de mercure ; une dose de 7,5 mcg. d'adrénaline entraîne une hypertension de 40 mm. de mercure.

3 - Conclusion :

Cette étude basée sur la mesure des variations de pression carotidienne chez le lapin, montre que l'injection d'ésérine, inhibiteur de la cholinestérase, ne modifie pas la réponse due à l'administration de chlorhydrate de 3-acétoxy-quinuclidine, ce corps ne serait pas, dans nos conditions expérimentales, influencé par la cholinestérase. Mais il faut remarquer que l'effet hypotenseur enregistré avec la substance de référence, l'acétylcholine, se trouve, après ésérine, seulement multiplié par 7.

- Etude in vitro sur la musculature dorsale éternée de sangsue .

Afin de préciser l'influence de la cholinestérase sur le chlorhydrate de 3-acétoxy-quinuclidine, le test sur le muscle dorsal ésériné de la sangsue nous a semblé le meilleur tant par sa spécificité que par sa sensibilité.

1 - Technique :

Nous employons la technique classique d'utilisation de la musculature dorsale éternée de sangsue (14). La portion antérieure du muscle dorsal de sangsue prélevée est plongée dans une solution de Ringer dont la composition est la suivante :

- Chlorure de Sodium 6,270 g.
- Chlorure de Potassium 0,154 g.
- Chlorure de Calcium 0,156 g.
- Acide Phosphorique (N) 1,81 cm³
- Carbonate de Sodium q.s. pour
obtenir un pH de 7,1
- Eau distillée q.s.p. 1000 ml.

Laisser le muscle se détendre pendant une heure et demie en plaçant un contrepoids de 2 à 3 g. à 3 cm. de l'axe du stylet. La préparation est oxygénée à raison d'une bulle d'air par seconde.

2 - Résultats :

Obtenir des contractions du muscle dorsal de sangsue constantes après injection d'acétylcholine. Les doses nécessaires pour enregistrer cette contraction sont variables suivant les préparations. Elles sont comprises entre 5×10^{-8} g. et 5×10^{-6} g./ml de Ringer.

Par exemple des doses d'acétylcholine de 10^{-6} g./ml. entraînent des contractions constantes du muscle de 50 mm.; après plusieurs rinçages, laisser agir 10 mn. une dose de 2×10^{-6} g. de salicylate d'ésérine, qui n'entraîne pas de variation du stylet enregistreur. Rincer plusieurs fois. La sensibilité de la préparation à l'acétylcholine est multipliée par 20. Si la potentialisation par l'ésérine de la réponse due à l'acétylcholine a été variable suivant les sangsues, elle a toujours été comprise entre 20 et 100 fois.

Des doses de chlorhydrate de 3-acétoxy-quinuclidine de l'ordre de 2×10^{-5} g./ml. entraînent une ascension du stylet de 70 mm.; après plusieurs rinçages, additionner une dose de 2×10^{-6} g. de salicylate d'ésérine qui n'entraîne pas de contraction du muscle. Rincer plusieurs fois; une concentration de chlorhydrate de 3-acétoxy-quinuclidine de 10^{-5} g./ml. (soit la moitié

de la dose précédente) entraîne une élévation du stylet supérieure à la contraction témoin du muscle après acétylcholine (2×10^{-5} g./ml.).

3 - Conclusion :

En utilisant comme test biologique la musculature dorsale éternée de sangsue, il semble que le chlorhydrate de 3-acétoxy-quinuclidine se trouve sous la dépendance de la cholinestérase ; lorsque le muscle est éterné, la contraction due au chlorhydrate de 3-acétoxy-quinuclidine est plus importante. Mais l'action de la cholinestérase sur ce corps est faible et n'est pas comparable à son pouvoir de dégradation de l'acétylcholine.

b) Influence du chlorhydrate de 3-acétoxy-quinuclidine sur l'activité de la cholinestérase :

- Etude in vivo par enregistrement de la pression carotidienne du lapin.

1 - Technique :

(Cf. ci-dessus).

2 - Résultats :

Tester la sensibilité du lapin comme il est indiqué ci-dessus. L'injection intra-veineuse de 7,5 mcg./kg. d'adrénaline entraîne une hypertension voisine de 40 mm. de mercure.

L'administration intra-veineuse de 7,5 mcg./kg. d'acétylcholine développe une hypotension de 25 mm. de mercure. Après injections de chlorhydrate de 3-acétoxy-quinuclidine à des doses variables (allant de 2 à 250 mcg./kg.) l'administration par voie intra-veineuse de 7,5 mcg. d'acétylcholine est toujours suivie d'une hypotension de 25 mm. de mercure. L'injection intra-veineuse d'adrénaline (7,5 mcg./kg.) est suivie d'un effet hypertenseur identique à celui obtenu en début d'expérimentation.

3 - Conclusion :

En prenant comme test la mesure de la pression carotidienne chez le lapin, le chlorhydrate de 3-acétoxy-quinuclidine ne semble pas influencer l'hypotension consécutive à l'injection

d'acétylcholine. Il n'est pas possible par ce test de conclure à un effet anticholinestérasique du chlorhydrate de 3-acétoxy-quinuclidine.

- Etude in vitro sur la musculature dorsale énnervée de sangsue.

1 - Technique :

(Cf. ci-dessus).

2 - Résultats :

Des concentrations d'acétylcholine de 5×10^{-6} g./ml. entraînent une augmentation de l'ascension du stylet enregistreur de 40 mm. Après plusieurs rinçages, laisser agir 10 mn. une dose de chlorhydrate de 3-acétoxy-quinuclidine de 2×10^{-6} g./ml., dose qui n'entraîne pas de variation du stylet enregistreur. Sans rincer, après addition d'acétylcholine 5×10^{-6} g./ml., l'effet contracturant est de 60 mm. Après rinçages, l'effet contracturant de 5×10^{-6} g. d'acétylcholine redevient progressivement normal. Une dose de chlorhydrate de 3-acétoxy-quinuclidine de 2×10^{-5} g./ml. entraîne une élévation du stylet inscripteur de 70 mm. Après rinçage et retour du stylet à son niveau initial les contractions dues à 5×10^{-6} g. d'acétylcholine sont identiques à celles obtenues en début d'expérimentation.

3 - Conclusion :

In vitro, en prenant comme réactif le muscle dorsal de sangsue il semble que le chlorhydrate de 3-acétoxy-quinuclidine possède une légère activité anticholinestérasique ; lorsque l'acétylcholine est additionnée au Ringer en présence de chlorhydrate de 3-acétoxy-quinuclidine son effet se trouve potentialisé. Mais, cet effet est fugace ; après rinçage l'effet de l'acétylcholine ne se trouve plus sous la dépendance de chlorhydrate de 3-acétoxy-quinuclidine ; le pouvoir inhibiteur de ce corps sur la cholinestérase n'existe plus.

CONCLUSION GENERALE :

En se rapportant à nos résultats obtenus par enregistrement de la pression carotidienne du lapin et des contractions du muscle dorsal éterné de sangsue, il semble que le chlorhydrate de 3-acétoxy-quinuclidine soit très faiblement dégradé par la cholinestérase : les résultats obtenus comparativement avec l'acétylcholine le prouvent.

D'autre part, le chlorhydrate de 3-acétoxy-quinuclidine n'a que peu d'influence sur l'activité de la cholinestérase : le Chlorhydrate de 3-acétoxy-quinuclidine potentialise faiblement les réponses dues à l'acétylcholine ; nous pouvons conclure que ce corps a un pouvoir anticholinestérasique faible.

3° - MISE EN EVIDENCE DES PROPRIETES CHOLINOMIMETIQUES DU COLLYRE C 162 D SUR LE GLOBE OCULAIRE.

1 - Généralités :

Pour tester l'activité pharmacologique du collyre C 162 D, nous avons fait ensuite appel à l'une des propriétés parasympathicomimétiques du principe actif, le chlorhydrate de 3-acétoxy-quinuclidine, à savoir son effet myotique sur l'oeil de lapin.

Cette étude d'activité a été effectuée comparative-ment à celle d'une solution de nitrate de pilocarpine à 2 % d'une part, et d'une solution de chlorhydrate de quinuclidinol à 2 % d'autre part, ce dernier produit pouvant être libéré par hydrolyse du chlorhydrate de 3-acétoxy-quinuclidine.

2 - Principe de la méthode :

Le produit myotique à tester est instillé dans un oeil d'un lot de lapins (oeil droit par exemple) pendant que l'autre oeil reçoit un produit de référence (oeil gauche par exemple).

Les diamètres pupillaires sont alors mesurés. Un essai croisé est ensuite pratiqué après un délai de 7 jours. Les produits sont inversés et les mesures effectuées à nouveau.

Les mesures du diamètre pupillaire sont réalisées à l'aide d'un pupillomètre en éclairage contrôlé, et ceci, à des intervalles déterminés. La comparaison des activités entre le produit à tester et le produit de référence est alors établie. Ces mesures sont effectuées en double-insu.

3 - Protocole expérimental :

- Choix des animaux :

Nous avons sélectionné un lot de 6 lapins albinos de même âge et de même poids. Ces animaux ont reçu une nourriture identique (Provende Extra-Labo et eau fraîche à volonté). Ils sont maintenus dans des conditions semblables de température et d'éclairement.

Nous les avons répartis en deux lots composés chacun de 3 animaux.

- Conditions expérimentales générales :

Les deux lots formés sont les suivants :

LOT A :

| | | |
|-------------|---|-------------|
| Comparaison | Chlorhydrate de 3-acétoxy-quinuclidine 2% | : collyre A |
| | Chlorhydrate de quinuclidinol 2% | : collyre B |

Lapins n° N7, N1, O7.

LOT B :

| | | |
|-------------|---|-------------|
| Comparaison | Chlorhydrate de 3-acétoxy-quinuclidine 2% | : collyre C |
| | Nitrate de pilocarpine 2 % | : collyre D |

Lapins n° 18, H8, M9.

Pour ces deux lots nous avons opéré comme suit :

- une heure avant l'instillation: les animaux ont été placés en salle d'expérience sous éclairage constant.
- le diamètre pupillaire initial (temps 0) a été mesuré.
- chaque oeil a reçu en instillation 2 gouttes des produits à examiner, soit :

LOT A :

1ère série expérimentale

O.D. : collyre A

O.G. : collyre B

2ème série expérimentale

O.D. : collyre B

O.G. : collyre A

LOT B :

1ère série expérimentale

O.D. : collyre C

O.G. : collyre D

2ème série expérimentale

O.D. : collyre D

O.G. : collyre C

- Le diamètre pupillaire a ensuite été mesuré aux temps :
+ 5 minutes, + 30 minutes, + 90 minutes, + 6 heures, + 24 heures,
après l'instillation, et ce, chez tous les animaux.

4 - Résultats :

Pour chaque oeil et chaque série expérimentale ,
nous avons calculé :

- la surface pupillaire en partant du diamètre mesuré et en appliquant la formule :

$$\frac{\pi D^2}{4}$$

- le pourcentage d'accroissement du myosis en fonction du temps d'après la formule :

$$\frac{\text{Surface pupillaire initiale} - \text{Surface pupillaire x}}{\text{Surface pupillaire initiale}} \times 100$$

- l'indice différentiel entre les deux yeux de chaque lapin pour toutes les mesures effectuées.

Les résultats obtenus sont rapportés sur les 4 tableaux ci-joints. La variation de la surface pupillaire fait l'objet de courbes jointes également au rapport.

C 162 D - ACTIVITE MYOTIQUE

LOT A - 1ère SERIE

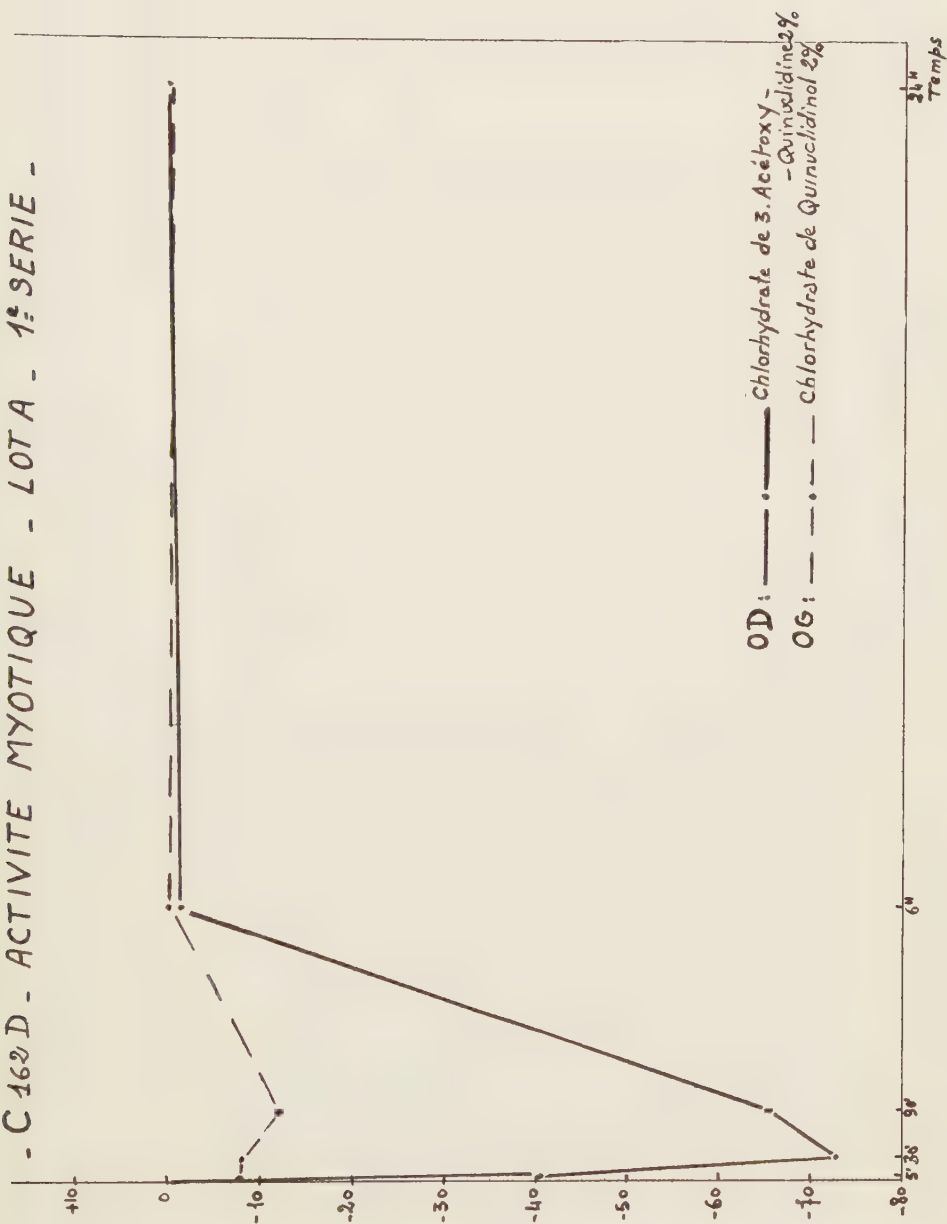
| N°
des
lapins | T 0 | | T1 = + 5' | | T2 = + 30' | | T3 = + 90' | | T4 = + 6 h. | | T5 = + 24 h. | |
|---|--------|--------|-----------|---------|------------|---------|------------|----------|-------------|--------|--------------|--------|
| | OD | OG | OD | OG | OD | OG | OD | OG | OD | OG | OD | OG |
| N 7 | 50, 24 | 50, 24 | 33, 16 | 50, 24 | 12, 56 | 50, 24 | 19, 62 | 44, 15 | 50, 24 | 56, 71 | 50, 24 | 50, 24 |
| N 1 | 50, 24 | 56, 71 | 28, 26 | 50, 24 | 12, 56 | 50, 24 | 12, 56 | 50, 24 | 63, 58 | 50, 24 | 56, 71 | 56, 71 |
| O 7 | 50, 24 | 50, 24 | 28, 26 | 44, 15 | 15, 89 | 44, 15 | 19, 62 | 44, 15 | 50, 24 | 50, 24 | 44, 15 | 50, 24 |
| Surface pupil-
laire moyenne | 50, 24 | 52, 40 | 29, 89 | 48, 21 | 13, 67 | 48, 21 | 17, 27 | 46, 18 | 54, 69 | 52, 40 | 50, 37 | 52, 40 |
| % diminution
de la surface
pupillaire | | | - 40, 50 | - 7, 99 | - 72, 79 | - 7, 99 | - 65, 62 | - 11, 87 | + 8, 86 | 0 | + 0, 26 | 0 |
| Indice
différentiel | | | 32, 51 | | 64, 80 | | 53, 75 | | 8, 86 | | 0, 26 | |

OD : Chlorhydrate de 3-Acetoxy-Quinuclidine 2 %

OG : Chlorhydrate de Quinuclidinol 2 %

Les chiffres expriment les surfaces pupillaires en mm2.

- C 162 D - ACTIVITE MYOTIQUE - LOT A - 1^{re} SERIE -



C 162 D - ACTIVITE MYOTIQUE

LOT B - 1ère SERIE

| N°
des
lapins | T0 | | T1 = + 5' | | T2 = + 30' | | T3 = + 90' | | T4 = + 6 h. | | T5 = + 24 h. | |
|---------------------------------------|--------|--------|-----------|---------|------------|----------|------------|----------|-------------|---------|--------------|---------|
| | OD | OG | OD | OG | OD | OG | OD | OG | OD | OG | OD | OG |
| I 8 | 44, 15 | 33, 16 | 28, 26 | 33, 16 | 7, 06 | 23, 74 | 9, 61 | 28, 26 | 33, 16 | 38, 46 | 33, 16 | 33, 16 |
| H 8 | 56, 71 | 63, 58 | 44, 15 | 56, 71 | 7, 06 | 33, 16 | 15, 89 | 38, 46 | 56, 71 | 56, 71 | 56, 71 | 56, 71 |
| M 9 | 44, 15 | 50, 24 | 44, 15 | 50, 24 | 12, 56 | 28, 26 | 19, 62 | 33, 16 | 56, 71 | 44, 15 | 56, 71 | 50, 24 |
| Surface
pupillaire
moyenne | 48, 34 | 48, 99 | 38, 85 | 46, 70 | 8, 89 | 28, 39 | 15, 04 | 33, 29 | 48, 86 | 46, 44 | 48, 86 | 46, 70 |
| % diminution
Surface
pupillaire | | | -19, 63 | - 4, 67 | - 81, 61 | - 42, 05 | - 68, 89 | - 32, 05 | + 1, 07 | - 5, 20 | + 1, 07 | - 4, 67 |
| Indice
différentiel | | | 14, 96 | | 39, 56 | | 36, 84 | | 6, 27 | | 5, 74 | |

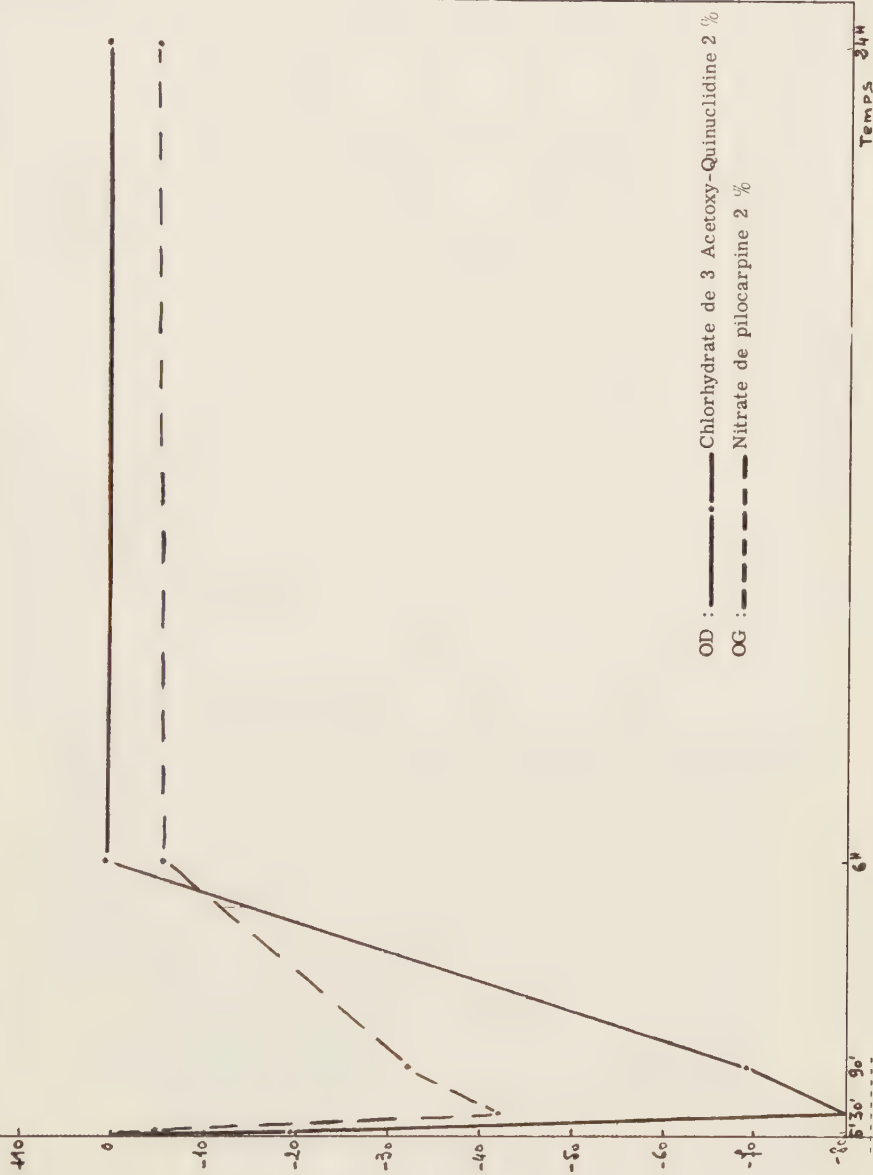
OD : Chlorhydrate de 3-Acetoxy-Quinuclidine 2 %

OG : Nitrate de Pilocarpine 2 %

Les chiffres expriment des surfaces
pupillaires en mm².

% dimorphique

- G 462 D - ACTIVITE MYOTIQUE - LOT B - 1^{re} SERIE.



Temps 34 min

C 162 D - ACTIVITE MYOTIQUE

LOT A - 2ème SERIE

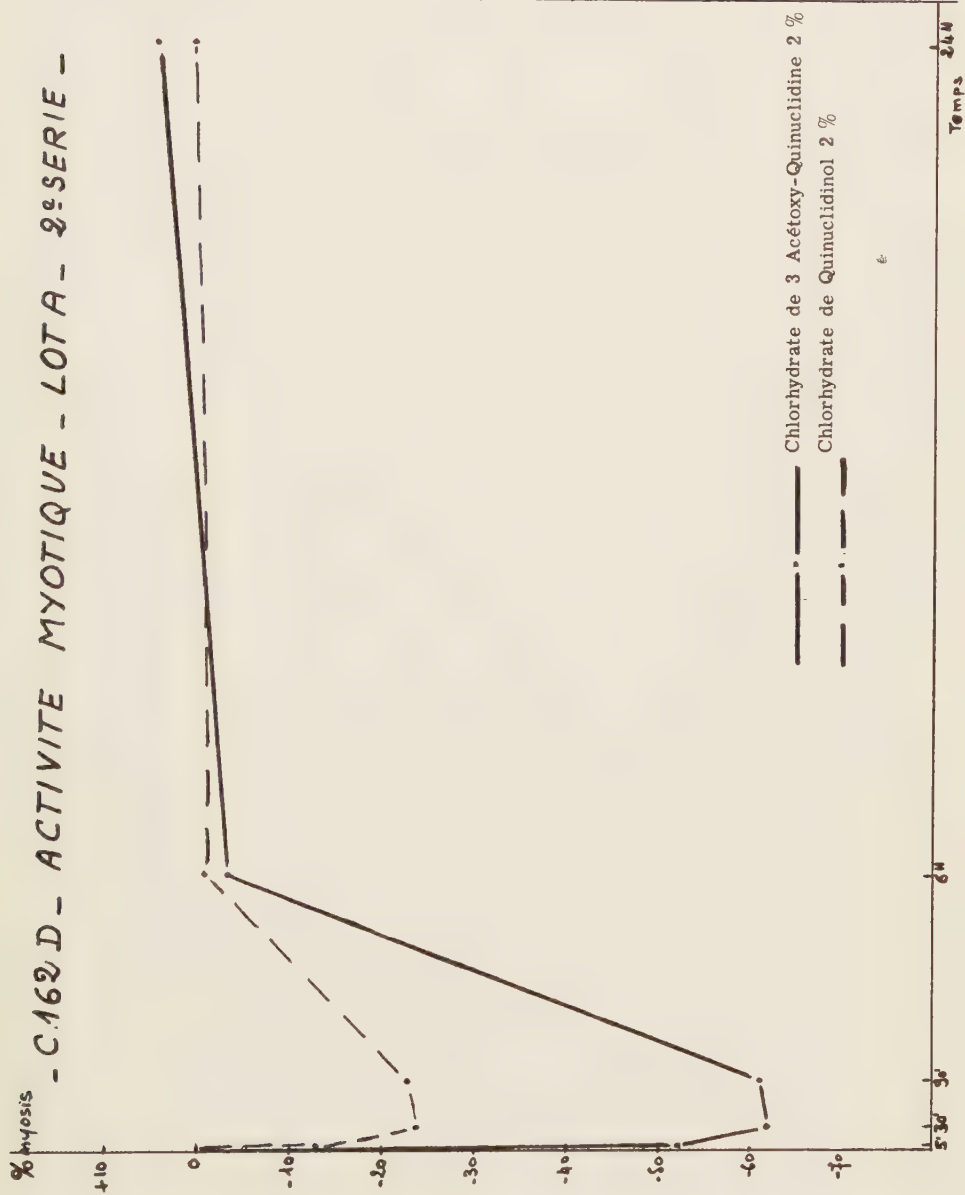
| N°
des
lapins | T 0 | | T1 = + 5' | | T2 = + 30' | | T3 = + 90' | | T4 = + 6 h. | | T5 = + 24 h. | |
|---------------------------------------|--------|--------|-----------|----------|------------|----------|------------|----------|-------------|---------|--------------|---------|
| | OD | OG | OD | OG | OD | OG | OD | OG | OD | OG | OD | OG |
| N 7 | 38, 46 | 44, 15 | 44, 15 | 28, 26 | 38, 46 | 19, 62 | 38, 46 | 23, 74 | 50, 24 | 38, 46 | 38, 46 | 56, 71 |
| N 1 | 50, 24 | 50, 24 | 38, 46 | 28, 26 | 44, 15 | 15, 89 | 50, 24 | 12, 56 | 50, 24 | 38, 46 | 56, 71 | 56, 71 |
| O 7 | 56, 71 | 50, 24 | 44, 15 | 12, 56 | 28, 26 | 19, 62 | 23, 74 | 19, 62 | 44, 15 | 63, 58 | 44, 15 | 38, 46 |
| Surface
pupillaire
moyenne | 48, 47 | 48, 21 | 42, 25 | 23, 03 | 36, 96 | 18, 38 | 37, 48 | 18, 64 | 48, 21 | 46, 83 | 46, 44 | 50, 63 |
| % diminution
surface
pupillaire | | | - 12, 83 | - 52, 23 | - 23, 74 | - 61, 87 | - 22, 67 | - 61, 33 | - 0, 53 | - 2, 86 | - 4, 18 | + 5, 01 |
| Indice
différentiel | | | 39, 40 | | 38, 13 | | 38, 66 | | 2, 33 | | 9, 19 | |

OD - Chlorhydrate de Quinuclidinol 2 %

OG - Chlorhydrate de 3-Acetoxy-Quinuclidine 2 %

Les chiffres expriment des surfaces
pupillaires en mm²

- C162 D - ACTIVITE MYOTIQUE - LOTA - 2^e SERIE -



C 162 D - ACTIVITE MYOTIQUE

LOT B - 2ème SERIE

| N°
des
lapins | T 0 | | T1 = + 5 ' | | T2 = + 30' | | T3 = + 90' | | T4 = + 6 h. | | T5 = + 24 h. | |
|---------------------------------------|-------|-------|------------|--------|------------|--------|------------|--------|-------------|--------|--------------|---------|
| | OD | OG | OD | OG | OD | OG | OD | OG | OD | OG | OD | OG |
| I 8 | 38,46 | 28,26 | 19,62 | 12,56 | 28,26 | 12,56 | 23,74 | 15,89 | 33,16 | 28,26 | 33,16 | 28,26 |
| H 8 | 63,58 | 50,24 | 38,46 | 23,74 | 33,16 | 12,56 | 38,46 | 23,74 | 56,71 | 56,71 | 56,71 | 50,24 |
| M 9 | 38,46 | 38,46 | 28,26 | 23,74 | 38,46 | 19,62 | 28,26 | 19,62 | 50,24 | 50,24 | 50,24 | 50,24 |
| Surface
pupillaire
moyenne | 46,83 | 38,99 | 28,78 | 20,01 | 33,29 | 14,91 | 30,15 | 19,75 | 46,70 | 45,07 | 46,70 | 42,91 |
| % diminution
surface
pupillaire | | | - 38,54 | -48,68 | -28,91 | -61,76 | -35,62 | -49,34 | - 0,28 | +15,59 | - 0,28 | + 10,05 |
| Indice
différentiel | | | 10,14 | | 32,83 | | 13,72 | | 15,87 | | 9,33 | |

OD : Nitrate de Pilocarpine 2 %

OG : Chlorhydrate de 3-Acetoxy-Quinuclidine 2 %

Les chiffres expriment des surfaces
pupillaires en mm².

-C.163.D- ACTIVITE MYOTIQUE - LOT B. 2^e SERIE.



Ces courbes montrent que l'action myotique du chlorhydrate de 3-acétoxy-quinuclidine à 2 % est environ le double de celle du nitrate de pilocarpine à 2 % et de 6 à 8 fois plus importante que celle du chlorhydrate de quinuclidinol à 2 %.

5 - Conclusion :

Dans les conditions de nos expériences, le C 162 D a présenté après instillation oculaire, chez le lapin, une activité myotique plus élevée que celle obtenue avec le nitrate de pilocarpine à la même concentration alors que le chlorhydrate de quinuclidinol, produit d'hydrolyse du chlorhydrate de 3-acétoxy-quinuclidine, s'est révélé bien moins actif.

4° - INFLUENCE DU C 162 D SUR LA DILATATION PUPILLAIRE PROVOQUEE PAR L'ATROPINE.

1 - Généralités :

Il a paru intéressant de noter l'influence du C162D sur la mydriase atropinique.

2 - Protocole expérimental :

6 lapins ont été testés comme suit :

- 1ère semaine :

Tous les animaux ont reçu dans les deux yeux un collyre de Sulfate d'Atropine à 2 %. Leur diamètre pupillaire a été mesuré aux temps : 0 (avant l'instillation), puis : + 5', + 30', + 90', + 6 h., + 24 h.

La courbe de dilatation pupillaire a été effectuée et nous avons noté le temps nécessaire à la mydriase maximum qui est située à : 90 minutes.

- 2ème semaine :

Tous les animaux ont reçu dans les deux yeux un collyre de Sulfate d'Atropine à 2 %.

Leur diamètre pupillaire a été mesuré et 30 minutes avant la mydriase maximum (d'après la mesure effectuée la semaine précédente à + 90 minutes), soit au temps + 60 minutes, ils ont reçu le collyre C 162 D -(Acéclidine chlorhydrate à 2 %).

3 - Résultats :

Nous avons, en superposant les deux courbes sur le même graphique, observé l'influence du C 162 D sur la dilatation pupillaire provoquée par l'Atropine.

Les résultats obtenus sont rapportés dans les tableaux ci-joints. Les chiffres correspondent à des surfaces pupillaires exprimées en mm² où nous avons déduit le pourcentage d'activité pupillomotrice. Des courbes de ce pourcentage, en fonction du temps ont été effectuées et sont également jointes.

ATROPINE 2 % - ACTIVITE PUPILLOMOTRICE.

- 1ère SERIE -

| N °
des
lapins | T 0 | | T1 = + 5' | | T2 = + 30' | | T3 = + 90' | | T4 = + 6 h. | | T5 = + 24 h. | |
|---------------------------------|--------|--------|-----------|----------|------------|---------|------------|----------|-------------|----------|--------------|--------|
| | OD | OG | OD | OG | OD | OG | OD | OG | OD | OG | OD | OG |
| K 3 | 33, 17 | 38, 46 | 38, 46 | 38, 46 | 50, 24 | 50, 24 | 50, 24 | 50, 24 | 50, 24 | 44, 16 | 38, 46 | 33, 17 |
| S 5 | 38, 46 | 38, 46 | 63, 58 | 56, 72 | 70, 85 | 56, 72 | 63, 58 | 63, 58 | 56, 72 | 56, 72 | 44, 16 | 38, 46 |
| X 1 | 44, 16 | 38, 46 | 50, 24 | 44, 16 | 63, 58 | 56, 72 | 63, 58 | 50, 24 | 63, 58 | 63, 58 | 50, 24 | 44, 16 |
| R 9 | 44, 16 | 38, 46 | 50, 24 | 56, 72 | 56, 72 | 63, 58 | 63, 58 | 70, 85 | 56, 72 | 56, 72 | 44, 16 | 38, 46 |
| V 7 | 44, 16 | 38, 46 | 50, 24 | 56, 72 | 63, 58 | 56, 72 | 70, 85 | 56, 72 | 63, 58 | 56, 72 | 50, 24 | 50, 24 |
| P 9 | 28, 26 | 33, 17 | 56, 72 | 44, 16 | 56, 72 | 56, 72 | 56, 72 | 63, 58 | 56, 72 | 63, 58 | 33, 17 | 38, 46 |
| Surface pupillaire moyenne | 38, 73 | 37, 58 | 51, 58 | 49, 49 | 60, 28 | 56, 78 | 61, 43 | 59, 20 | 57, 93 | 56, 91 | 43, 41 | 40, 49 |
| % diminution surface pupillaire | | | +33, 18 | + 31, 69 | +55, 64 | +51, 09 | + 58, 61 | + 57, 53 | +49, 57 | + 51, 44 | +12, 08 | +7, 72 |
| Indice différentiel | | | 1, 49 | | 4, 55 | | 1, 08 | | 1, 87 | | 4, 36 | |

OD - Atropine 2 %
OG - Atropine 2 %

Les chiffres expriment des surfaces pupillaires en mm².

ATROPINE 2 % - ACTIVITE PUPILLOMETRIQUE

2ème SERIE

GLAUCOSTAT

| N °
des
lapins | T 0 | | T1 = + 5' | | T2 = + 30' | | T3 - + 90' | | T4 = + 6 h. | | T5 = + 24 h. | |
|---------------------------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|
| | OD | OG | OD | OG | OD | OG | OD | OG | OD | OG | OD | OG |
| K 3 | <u>33, 17</u> | <u>33, 17</u> | <u>38, 46</u> | <u>33, 17</u> | <u>50, 24</u> | <u>50, 24</u> | <u>23, 75</u> | <u>19, 62</u> | <u>44, 16</u> | <u>44, 16</u> | <u>38, 46</u> | <u>38, 46</u> |
| X 1 | <u>44, 16</u> | <u>38, 46</u> | <u>56, 72</u> | <u>50, 24</u> | <u>50, 24</u> | <u>56, 72</u> | <u>50, 24</u> | <u>50, 24</u> | <u>63, 58</u> | <u>50, 24</u> | <u>56, 72</u> | <u>50, 24</u> |
| R 9 | <u>44, 16</u> | <u>44, 16</u> | <u>50, 24</u> | <u>56, 72</u> | <u>63, 58</u> | <u>63, 58</u> | <u>28, 26</u> | <u>23, 75</u> | <u>56, 72</u> | <u>50, 24</u> | <u>56, 72</u> | <u>50, 24</u> |
| V 7 | <u>44, 16</u> | <u>44, 16</u> | <u>63, 58</u> | <u>63, 58</u> | <u>63, 58</u> | <u>63, 58</u> | <u>50, 24</u> | <u>56, 72</u> | <u>56, 72</u> | <u>63, 58</u> | <u>56, 72</u> | <u>56, 72</u> |
| P 9 | <u>33, 17</u> | <u>33, 17</u> | <u>50, 24</u> | <u>44, 16</u> | <u>63, 58</u> | <u>63, 58</u> | <u>50, 24</u> | <u>44, 16</u> | <u>56, 72</u> | <u>56, 72</u> | <u>44, 16</u> | <u>44, 16</u> |
| S 5 | <u>44, 16</u> | <u>44, 16</u> | <u>50, 24</u> | <u>50, 24</u> | <u>63, 58</u> | <u>63, 58</u> | <u>56, 72</u> | <u>50, 24</u> | <u>56, 72</u> | <u>63, 58</u> | <u>44, 16</u> | <u>38, 46</u> |
| Surface pupillaire moyenne | <u>40, 50</u> | <u>39, 55</u> | <u>51, 58</u> | <u>49, 68</u> | <u>59, 13</u> | <u>60, 21</u> | <u>43, 24</u> | <u>40, 79</u> | <u>55, 77</u> | <u>54, 75</u> | <u>49, 49</u> | <u>46, 38</u> |
| % diminution surface pupillaire | | | <u>27, 36</u> | <u>25, 61</u> | <u>46, 00</u> | <u>52, 24</u> | <u>6, 76</u> | <u>3, 13</u> | <u>37, 70</u> | <u>35, 18</u> | <u>22, 20</u> | <u>17, 27</u> |
| Indice différentiel | | | <u>1, 75</u> | | <u>6, 24</u> | | <u>3, 63</u> | | <u>2, 52</u> | | <u>4, 93</u> | |

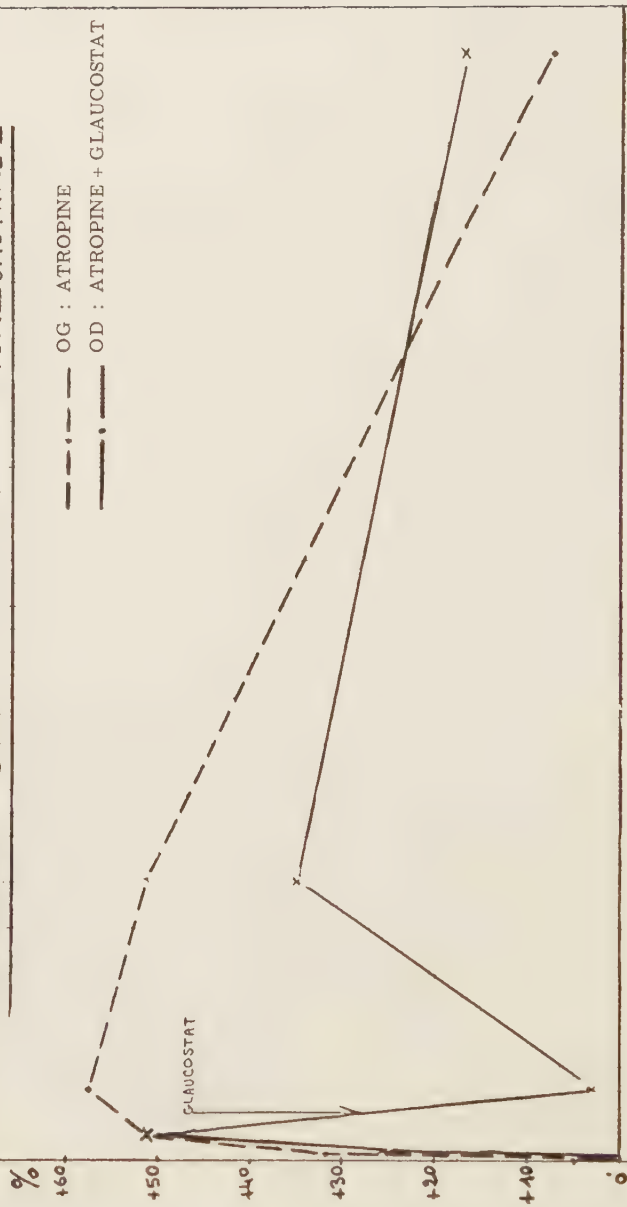
OD : ATROPINE + GLAUCOSTAT A 60'

OG : ATROPINE + GLAUCOSTAT A 60'

Les chiffres expriment des surfaces pupillaires en mm2.

ATROPINE + GLAUCOSTAT : ACTIVITE PUPILLOMOTRICE -

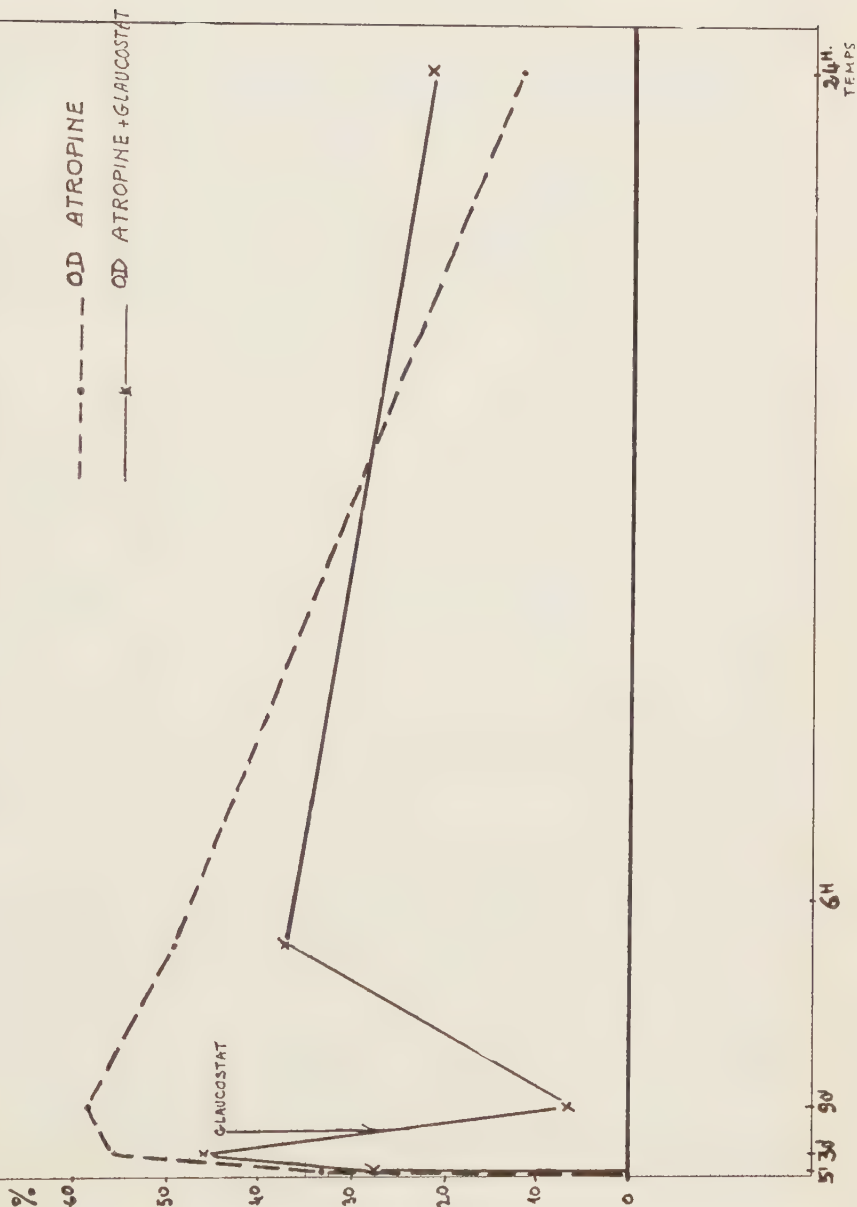
- - - - - OG : ATROPINE
 - - - - - OD : ATROPINE + GLAUCOSTAT



5:30 6:00 6:45
 TEMPS

ATROPINE + GLAUCOSTAT

ACTIVITE PUPILLOMETRIQUE



4 - Conclusion :

Il ressort de la précédente étude que :

- le C 162 D a une action myotique très rapide sur les yeux mis en mydriase par l'Atropine. Cette mydriase est pratiquement ramenée à zéro, 30 minutes après l'ins-tillation de C 162 D.
 - Cette action semble de courte durée, car 5 heures plus tard, on retrouve un certain pourcentage de mydriase, laquelle semble renforcée car au bout de 24 h., les yeux n'ont pas encore retrouvé leur diamètre pupillaire nor-mal.
-

5° PRECISIONS SUR LE METABOLISME DU C 162 D APRES ADMINISTRATION INTRA-OCULAIRE.

1 - Généralités :

Ces expériences ont pour but de préciser le métabolisme du chlorhydrate de 3-acétoxy-quinuclidine en solution à 2 % lorsqu'il est instillé dans l'oeil du lapin.

Ces recherches ont été effectuées :

- a) sur des ponctions d'humeur aqueuse
- b) sur la tension carotidienne du lapin
- c) sur le duodénum isolé du rat
- d) sur des hydrolyses in vitro.

2 - Expérimentation :

- a) Etude de la pénétration du collyre au chlorhydrate
d'Acéclidine.

En vue d'établir un parallélisme avec l'activité pharmacologique, nous avons cherché à déterminer la pénétration et la résorption du collyre au chlorhydrate d'Acéclidine. Cette détermination a été faite sur le lapin après instillation abondante de collyre.

Nous avons ensuite recherché l'Acéclidine dans l'humeur aqueuse au bout de 15 minutes et de 30 minutes après l'instillation et dans le plasma 30 minutes - 1 heure - 2 heures après l'instillation.

Les techniques mises en oeuvre sont celles de chromatographie en couches minces sur oxyde d'alumine G activé à 100 °. Le liquide de développement est le solvant de Partridge, et l'agent révélateur, le réactif de Dragendorff.

Nous n'avons pu révéler aucun spot dans l'humeur aqueuse.

Des études simultanées nous ont permis de déterminer la teneur limite en Acéclidine dans l'humeur aqueuse, limite qui peut être fixée à 20 γ /ml.

Nous n'avons pas obtenu plus de succès avec la détection dans le plasma.

b) Influence des instillations de Glaucostat sur la tension carotidienne du Lapin in vivo (clichés 1, 2, 3).

1 - Technique :

Ces expériences ont été réalisées sur 6 lapins narcosés à l'uréthane à raison de 1 g./kg. Il est procédé à la mise en place d'une canule dans l'artère carotide. Les substances de référence (Adrénaline) sont injectées dans la veine saphène. Les animaux reçoivent le collyre C 162 D sous forme d'instillations dans les deux yeux.

2 - Expérience :

Les différentes réponses obtenues après injection de médicament à tester sont encadrées par les réponses témoins de l'Adrénaline (7,5 mcg./kg.).

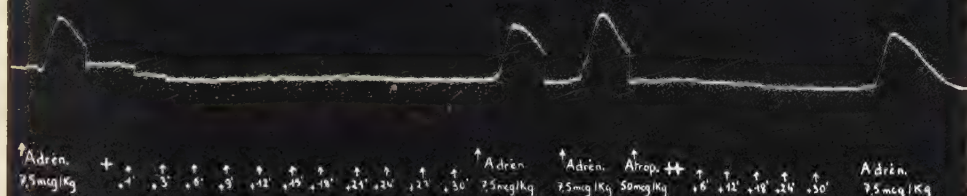
Ces essais portent sur des doses thérapeutiques et des doses plus élevées.

De faibles doses (correspondant à l'instillation de deux gouttes de collyre C 162 D dans chaque oeil) n'entraînent pas de modification importante de la tension artérielle. Il s'agit toujours d'une hypotension très faible.

Des instillations de C 162 D à raison de 5 gouttes dans chaque oeil entraînent une hypotension progressive maximum au bout de 6 minutes. La tension artérielle ne redevient normale que 20 minutes après ces instillations. Cet effet hypotenseur est supprimé par l'injection préalable d'Atropine à la dose de 50mcg./kg. par voie intra-veineuse.

Des doses plus élevées (instillées dans les mêmes conditions) de l'ordre de 10 gouttes sont suivies d'un effet hypotenseur plus marqué, maximum 5 minutes après l'instillation. La tension carotidienne ne redevient normale qu'après 20 à 25 minutes. L'effet hypotenseur est supprimé par l'Atropine injectée à raison de 50 mcg./kg.

VARIATIONS DE LA PRESSION ARTERIELLE DU LAPIN APRES INSTILLATIONS DE COLLYRE ACECLIDINE 2%



- + Réponse de l'Acéclidine 2% (5 gouttes dans chaque œil) observée pendant 30 minutes.
- ++ Réponse de l'Acéclidine 2% (5 gouttes dans chaque œil) observée pendant 30 minutes après injection préalable d'Atropine.

PHOTO N° 1

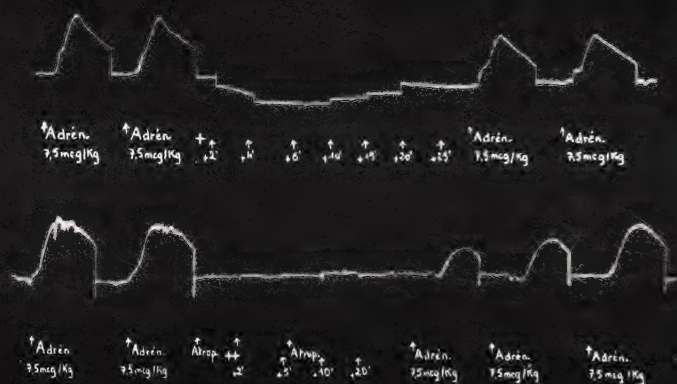
VARIATIONS DE LA PRESSION ARTERIELLE DU LAPIN APRES INSTILLATIONS DE COLLYRE ACECLIDINE 2%.



- + Réponse du solvant (5 gouttes dans chaque œil) observée durant 30 minutes.
- ++ Réponse de l'Acéclidine 2% (5 gouttes dans chaque œil) observée durant 30 minutes.

PHOTO N° 2

VARIATIONS DE LA PRESSION ARTERIELLE DU LAPIN APRES INSTILLATIONS DE COLLYRE ACECLIDINE 2 %



- + Réponse de l'Acéclidine 2% (40 gouttes dans chaque œil) observée pendant 25 minutes.
- ++ Réponse de l'Acéclidine 2% (40 gouttes dans chaque œil) observée pendant 20 minutes après injection préalable d'Atropine (50 mcg/Kg).

PHOTO N° 3

Il a été vérifié que l'instillation de 2,5 et 10 gouttes du solvant du chlorhydrate de 3-acétoxy-quinuclidine ne modifiait pas l'enregistrement de la pression carotidienne.

3 - Conclusion :

In vivo, en étudiant les variations de pression carotidienne chez le lapin il a pu être mis en évidence que des doses thérapeutiques de collyre C 162 D (correspondant à des instillations de 2 et 5 gouttes dans chaque oeil) entraînent une hypotension dont l'effet est fugace et maximum 5 minutes après l'instillation. Cet effet hypotenseur est d'origine cholinergique puisqu'il se trouve supprimé par l'injection préalable de sulfate d'Atropine.

c) In vitro, sur le duodénum isolé de rat, recherche de l'activité cholinergique du plasma provenant de lapins instillés avec le collyre Glaucostat (photos 4 et 5).

1 - Technique :

Le sang des lapins est prélevé, à des temps différents, par ponction cardiaque, à l'aide d'une seringue héparinée. Après une centrifugation de 15 minutes à 3 500 tours/minute, le plasma est séparé des hématies. L'activité du plasma est mesurée sur le duodénum isolé de rat immergé dans un bain nourricier correspondant à la formule suivante :

| | | |
|-----------------------|-------|-----|
| Chlorure de Sodium | 8 | g. |
| Chlorure de Potassium | 0,2 | g. |
| Chlorure de Calcium | 0,2 | g. |
| Chlorure de Magnésium | 0,2 | g. |
| Phosphate disodique | 0,005 | g. |
| Glucose | 1 | g. |
| Bicarbonate de Sodium | 1 | g. |
| Eau distillée | 1 000 | ml. |

2 - Expérimentation :

Le volume de la cuve à organes isolés est de 20ml. La longueur de la portion d'intestin prélevé est de 20 mm. Les concentrations sont exprimées en mcg./ml. de Tyrode. Le volume de plasma injecté dans la cuve est de 1 ml.

DUODENUM ISOLE DE RAT MAINTENU EN SURVIE
DANS LE TYRODE.

ACTIVITE DU PLASMA DE LAPIN AYANT REÇU
DES INSTILLATIONS DE GLAUCOSTAT.



+ + ++ ++ ++ ++ + +
-30' +5' +8' +12'

+ Acéclidine : 10^{-8} g/lml

++ Plasma avant et après instillations (40 gouttes dans chaque œil).

PHOTO N° 4

DUODENUM ISOLE DE RAT MAINTENU EN SURVIE
DANS LE TYRODE.

ACTIVITE CHOLINERGIQUE DU PLASMA DE LAPIN
AYANT REÇU DES INSTILLATIONS DE COLLYRE
ACECLIDINE 4%



+ + ++ + + + +++ ++ ++ ++ ++ ++ ++ + +
-30' +6' +12' +18' +24' +30' +36' +42'

+ Acéclidine : 2×10^{-8} g/lml

++ Atropine : 5×10^{-9} g/lml

+++ Plasma avant et après instillations (20 gouttes dans chaque œil).

PHOTO N° 5

L'expérience est conduite de la façon suivante :

temps = - 30 mn. prélèvement de sang témoin par ponction cardiaque.

temps = 0 mn. instillations de chlorhydrate de 3-acétoxy-quinuclidine en solution tamponnée à 2 % (C 162 D) ou à 4 %, à raison de 15 à 20 gouttes dans chaque oeil.

temps = + 3 mn. prélèvement de sang par ponction cardiaque

temps = + 6 mn. prélèvement de sang par ponction cardiaque

temps = + 12 mn. prélèvement de sang par ponction cardiaque

temps = + 24 mn. prélèvement de sang par ponction cardiaque.

Des concentrations d'Acéclidine de l'ordre de 2.10^{-7} (0,2 mcg.) exercent une action spasmogène marquée. Cette action est diminuée de 30 % par l'administration préalable d'Atropine (5.10^{-9} soit : 0,005 mcg.).

Le plasma témoin provenant de l'animal n'ayant pas encore reçu des instillations de collyre C 162 D possède une activité faible ou nulle.

Le plasma provenant d'un animal ayant reçu des instillations de collyre C 162 D (à raison de 12 à 15 gouttes dans les deux yeux) ne possède pas d'activité cholinergique significative, sur le duodénum isolé de rat, 3, 6, 12 et 24 minutes après le traitement.

Le plasma provenant d'un animal ayant reçu des instillations d'une solution tamponnée de chlorhydrate de 3-acétoxy-quinuclidine à 4 % (à raison de 20 gouttes dans les deux yeux) possède une activité cholinergique, seulement 6 minutes après les instillations. Cette activité est comparable à l'action d'une dose d'acéclidine de l'ordre de 2.10^{-7} (0,2 mcg.) et se trouve antagonisée de 30 % par l'administration préalable d'Atropine (0,005 mcg.).

3 - Conclusion :

In vitro, sur le duodénum isolé de rat, le plasma provenant de lapins recevant des instillations de collyre C 162 D à doses thérapeutiques (2 à 5 gouttes dans chaque oeil) ne possède pas d'activité cholinergique. Seul le plasma provenant d'animaux

ayant reçu des fortes doses (20 gouttes d'une solution tamponnée d'acéclidine à 4 %) possède 6 minutes après les instillations une action contracturante sur le duodénum isolé de rat ; cette activité spasmodique est antagonisée par l'Atropine (à la dose de 0,005mcg.)

N.B. - Chez tous les animaux il a pu être constaté 2 effets secondaires 4 à 6 minutes après les instillations : hypersialorrhée et diarrhée.

d) Stabilité et hydrolyse du chlorhydrate d'Acéclidine.

1 - Stabilité du chlorhydrate d'Acéclidine :

Nous avons étudié la stabilité du collyre au chlorhydrate d'Acéclidine conservé après mise en solution à la température du laboratoire.

Nous utilisons pour cela la technique de chromatographie en couches minces sur oxyde d'alumine G activé à 100 °.

En utilisant comme agent de développement le solvant de Partridge et comme révélateur le réactif de Dragendorff, un collyre frais fournit un seul spot coloré en jaune orangé. Il en est ainsi jusqu'à la quatrième semaine de conservation. A ce moment apparaît un spot violet de dédoublement.

Cette constatation justifie la préparation extemporanée du collyre au chlorhydrate d'Acéclidine.

2 - Hydrolyse de l'Acéclidine in vitro par le sérum :

Pour compléter notre étude pharmacodynamique, nous avons recherché la vitesse d'hydrolyse du chlorhydrate d'acéclidine in vitro par les estérases de divers sérums.

Notre technique a consisté à laisser en présence le collyre à l'acéclidine et le sérum de l'homme ou de divers animaux de laboratoire pendant plusieurs heures au bain-marie à 37°.

Nous avons suivi la disparition de l'Acéclidine par le micro-dosage de la fonction ester selon le procédé classique dit de l'hydroxamate ferrique.

CONCLUSIONS GENERALES

L'examen du collyre C 162 D a permis de dégager les quelques conclusions suivantes :

- du point de vue bibliographique

Nous sommes en présence d'un dérivé de l'Acéclidine. Il s'agit d'un produit défini utilisé pour des propriétés cholinomimétiques très actives en Médecine Générale, Chirurgie, Ophtalmologie.

- l'étude Toxicologique du C 162 D nous a conduits à rechercher la DL 50 par voie intra-veineuse et par voie intra-péritonéale chez la souris, la DL 50 par voie intra-péritonéale chez le rat, la toxicité locale aiguë chez le lapin, la toxicité locale chronique chez le lapin.

Tous ces examens ont donné des résultats que nous avons explicités et qui paraissent satisfaisants.

- l'étude Pharmacologique du collyre C 162 D nous a permis de mettre en évidence ses propriétés cholinomimétiques sur la tension artérielle du lapin, sur les organes isolés (duodénum de rat en particulier), et surtout son activité myotique et hypotensive sur le globe oculaire. Il a été précisé ses interactions avec les cholinestérases et quelques aspects de son métabolisme.

Cette étude a permis l'utilisation du collyre C 162 D en thérapeutique humaine. Chez le glaucomateux, " le chlorhydrate d'acéclidine s'est révélé être un hypotenseur majeur, d'une extrême souplesse thérapeutique, pour assurer seul le traitement du glaucome ou prendre le relais après échec d'autres hypotenseurs ".

$\frac{1}{2} = \frac{2}{4} = \frac{3}{6} = \frac{4}{8} = \frac{5}{10} = \frac{6}{12} = \frac{7}{14} = \frac{8}{16} = \frac{9}{18} = \frac{10}{20}$

Vu,

Clermont-Ferrand, le 5 mars 1968

Le Président du Jury

P. BASTIDE

Vu et Permis d'Imprimer

n° Ph 1/68

Clermont-Ferrand, le 7 mars 1968

Le Doyen de la Faculté Mixte
de Médecine et de Pharmacie

G. MEYNIEL

BIBLIOGRAPHIE

- 1 - BASTIDE P. - Rapport d'expertise toxicologique pharmacologique du C 162 D (Communication personnelle).
- 2 - BASTIDE P., TRONCHE P., ROUHER F. - Arzneimittel-Forsch., 1968, 18, 322.
- 3 - BEHRENS B - Arch. exp. Path. Pharmac., 140, 237, 1929.
- 4 - BEHRENS B., KARBER G. - Arch. exp. Path. Pharmac., 177, 379, 1935.
- 5 - Brevet français n° 1, 368, 308, du 22 Juin 1964.
- 6 - B.S.M. n° 5.042 M, du 7 octobre 1965, B.O.B.I., 7, 23, 562-563, 1967.
- 7 - ETIENNE R., BARUT CH., GONZALES-BOUCHON J. - Ann. Oculist. Paris, 200, n° 3, 287-292, 1967.
- 8 - KARBER G. - Arch. exp. Path. Pharmac., 162, 480, 1931.
- 9 - MAGNUS - Arch. J. Physiol., 102, 123, 349, 1904.
- 10 - MARTIN-SMITH M., SMAIL G.A., STENLAKE J.B. - J. Pharm. Pharmacol., 19, 561-589, 1967.
- 11 - MASHKOWSKII M.D., ZAITSEVA K.A. - Farmakol i Toksikol 23, 398-406, 1960.
- 12 - Mc HARDY G., BROWNE D., Mc BROWNE D., Mc HARDY R., BODET C.A., WARD S. - Amer. J. Gastro-Ent., 24, 601-612, 1955.
- 13 - MIKHLINA E.E., RUBTSOV M.V. - J. Gen. Chem. U.S.S.R., 30, 163-171, 1960.

II

- 14 - MOINET - Thèse Doct. Med. univ. Pharm. Strasbourg 1954
- 15 - REGNIER J. - Thèse Doct. Med. Paris 1929.
- 16 - RUBTSOV M.V., MIKHLINA E.E. - J. Gen. Chem. U.S.S.R., 23, 733, 1953, English translation.
- 17 - SHARTS S.I., SHULPINA H.B. - Ophtal. Zurnal, 6, 348-351, 1961.
- 18 - TONDEUR R., URBAIN M. - Clin. Ter., 4, 207, 1966.
- 19 - VOROBIEVA G.P. - Ophtal-Zurnal, 6, 352-359, 1961.

$\frac{1}{2} \times \frac{1}{2} = \frac{1}{4}$

TABLE DES MATIERES

| | |
|--|-------|
| - INTRODUCTION | p. 1 |
| - RECHERCHES BIBLIOGRAPHIQUES | p. 5 |
| - ETUDE EXPERIMENTALE | p. 15 |
| A - <u>Etude toxicologique du C 162 D</u> | p. 17 |
| 1) Détermination de la toxicité aiguë générale | p. 18 |
| a) Détermination de la dose léthale 50 par
voie I.V. chez la souris | p. 18 |
| b) Détermination de la dose léthale 50 par
voie I.P. chez la souris | p. 23 |
| c) Détermination de la dose léthale 50 par
voie I.P. chez le rat | p. 27 |
| d) Conclusions | p. 31 |
| 2) Détermination de la tolérance locale aiguë
chez le lapin | p. 32 |
| 3) Détermination de la tolérance locale chronique
chez le lapin | p. 34 |
| B - <u>Etude pharmacologique du C 162 D</u> | p. 37 |
| 1) Mise en évidence des propriétés cholinomimé-
tiques générales du chlorhydrate de 3-acétoxy-
quinuclidine | p. 38 |
| a) Sur la tension artérielle et la respiration
chez le lapin | p. 38 |
| b) Sur les organes isolés | p. 41 |

| | |
|---|-------|
| 2) Influence de la cholinestérase sur le chlorhydrate de 3-acétoxy-quinuclidine et influence du chlorhydrate de 3-acétoxy-quinuclidine sur l'activité de la cholinestérase | p. 46 |
| 3) Mise en évidence des propriétés du collyre C 162 D sur le globe oculaire (test au pupillomètre chez le lapin) | p. 51 |
| 4) Influence du collyre C 162 D sur la dilatation pupillaire provoquée par l'atropine | p. 63 |
| 5) Métabolisme du chlorhydrate de 3-acétoxy-quinuclidine après administration intra-oculaire | p. 69 |
| - CONCLUSIONS GENERALES | p. 79 |
| - BIBLIOGRAPHIE | p. I |
